

包括的なゲノムワイドRNAiスクリーニングと免疫沈降-質量分析によるショウジョウバエTollシグナル伝達経路の解析

著者	加藤 弘之
著者別表示	Kato Hiroyuki
雑誌名	博士論文本文Full
学位授与番号	13301甲第4887号
学位名	博士(創薬科学)
学位授与年月日	2019-03-22
URL	http://hdl.handle.net/2297/00058903

博士論文

包括的なゲノムワイド RNAi スクリーニングと 免疫沈降-質量分析によるショウジョウバエ Toll シグナル伝達経路の解析

金沢大学大学院医薬保健学総合研究科

創薬科学専攻

生体防御応答学研究室

学籍番号 1629012002

氏 名 加藤 弘之

主任指導教員名 倉石 貴透

目次

要旨		4
序章		5
本論		8
第 1 章	包括的ゲノムワイド RNAi スクリーニングを用いた Toll 経路に関 わるシグナル伝達因子の同定と機能解析	8
第 1 節	ショウジョウバエ Myd88 遺伝子と Tube 遺伝子の共過剰発現により Toll 経路を活性化した細胞を用いたゲノムワイド RNAi スクリーニング	9
第 2 節	ゲノムワイド RNAi スクリーニングにより同定された候補遺伝子の機能 分類	11
第 3 節	ゲノムワイド RNAi スクリーニングにより同定された候補遺伝子の RNAi 効果の確認	13
第 4 節	まとめと考察	15
第 2 章	共免疫沈降-質量分析による Toll 経路に関わるシグナル伝達 因子の同定	18
第 1 節	Myddosome 複合体の共免疫沈降-質量分析	19
第 2 節	共免疫沈降-質量分析により同定された因子の機能分類	21
第 3 節	共免疫沈降-質量分析により同定された翻訳後修飾	22
第 4 節	まとめと考察	24
第 3 章	Toll 経路に関与すると考えられる因子のバイオインフォマティク ス解析	27
第 1 節	ゲノムワイド RNAi スクリーニング結果と共免疫沈降-質量分析結果の バイオインフォマティクス解析	28
第 2 節	Toll 経路に関与すると考えられるキナーゼ関連遺伝子	30
第 3 節	まとめと考察	32

図表とレジェンド	35
結論と展望	69
材料と方法	73
参考文献	79
謝辞	83

要旨

ショウジョウバエの Toll 経路は、病原体や組織傷害に対する自然免疫応答をはじめ、胚発生、細胞間相互作用等重要な生理的プロセスに関与している。しかしながら、主に病原体を認識する哺乳動物の Toll 様受容体の自然免疫経路と比較して、多様な応答性を有するショウジョウバエ Toll 受容体のシグナル伝達因子とその制御機構は完全には解明されていない。本研究では、共同研究者らにより報告されている一連の *ex vivo* での包括的なゲノムワイド RNAi スクリーニングをさらに進めた。Toll 受容体直下のシグナル伝達因子複合体: Myddosome の構成因子であるショウジョウバエの Myd88 (*Drosophila* Myd88: dMyd88) と Tube の過剰発現を用いて、Toll 経路のゲノムワイド RNAi スクリーニングを実施するとともに、複合体中に存在する構成要素を同定するために共免疫沈降-ショットガン質量分析を行った。これらの分子生物学的スクリーニングおよび複合体プロテーム解析の結果に基づいてバイオインフォマティクス分析を行った結果、ショウジョウバエの Toll シグナル伝達経路に関与するプロテインキナーゼ等の候補分子、ならびに Toll シグナル伝達制御に関与すると考えられる翻訳後修飾を同定し、Toll 経路に関わるこれらの因子とその制御機構に関して新たな仮説を提唱するに至った。

序章

自然免疫は、ショウジョウバエ等の無脊椎動物から、ヒトを含む脊椎動物に至るまで、生物が本来持っている生体防御システムであり、病原体等の認識、排除を担う重要なメカニズムである(1)。この自然免疫の概念は、その遺伝学をはじめとする豊富な実験手法に支えられたショウジョウバエにおける抗菌応答の発見により提唱された。自然免疫の主要なメカニズムは、病原体等の異物を認識する受容体と、その下流のシグナル伝達を介して抗菌ペプチドの産生等に至る応答反応である。ショウジョウバエにおいては、脊椎動物とは異なり獲得免疫系は存在せず、自然免疫のみで生体防御を行なっていることから、優れたモデル動物として自然免疫関連因子の同定、その制御機構の解明に大きく貢献して来た。

NF- κ B シグナル伝達は、自然免疫のみならず、発生、炎症、がん化、神経ネットワークの形成等多くの生理学的なプロセスにおいて重要な役割を果たしている(2, 3, 4)。NF- κ B シグナル伝達を活性化する主要なメカニズムの一つは、ショウジョウバエからヒトにおいて広く保存されている Toll 様受容体(TLR:Toll like receptor)-MyD88 依存性経路である(5, 6, 7)。ショウジョウバエにおいては、細菌由来のリガンドが、血リンパにおいてペプチドグリカン認識タンパク(PGRP)-SA/ GNB1 複合体又は GNB3 により認識され、次にセリンプロテアーゼカスケードが活性化される。その結果、Spätzle(Spz)の活性化型である Toll 受容体のリガンドが生成される(8, 9)。活性化された Toll 受容体によりショウジョウバエの MyD88(*Drosophila* Myd88:dMyd88), Tube

(哺乳類の IRAK4と相同性が高いがキナーゼ活性を有していない), プロテインキナーゼ Pelle(哺乳類の IRAK1と相同)を含む Myddosome と呼ばれるアダプタータンパク質複合体が動員される. 細胞膜上での Myddosome の形成は, E3 リガーゼである Sherpa の Lys63 のユビキチン化により維持され(10), 未知のメカニズムによりショウジョウバエの I κ B の相同体である Cactus にシグナルが伝達される. Cactus が分解されることにより NF- κ B の相同タンパクである Dif の核への移行が引き起こされ, *Drosomycin*(Drs)等の抗菌ペプチド遺伝子の発現が誘導される(Fig. 1).

これまでに共同研究者らは, 未解明な部分を残す Toll 経路の分子メカニズムを解明するために, DL1 培養細胞株(後期胚由来の血球系接着細胞)を用いて実施した包括的なゲノムワイド RNAi スクリーニングについて報告している(10, 11). これらの報告では, Toll 受容体活性化能を持つ幼虫の組織抽出物による刺激(11), アダプター分子 dMyd88, IRAK ホモログ Pelle, NF- κ B ホモログ Dif の過剰発現, または, 抑制因子 Cactus のノックダウンにより(10), DL1 細胞を用いた包括的なゲノムワイド RNAi スクリーニングが行われた. その結果, DL1 細胞では, ショウジョウバエ成虫と同等の Toll 経路のシグナル伝達カスケードが保持され, かつ厳密に制御されていることが示された. 例えば, dMyd88 の過剰発現により誘導された Drs の発現は, dMyd88, Tube, Pelle あるいは Dif を標的とした RNAi により抑制され, Pelle の過剰発現により誘導される Drs の発現は Pelle あるいは Dif を標的とした RNAi により抑制されることが示された. この DL1 細胞を用いて, Toll 経路の新規シグナル伝達因子を探索した結果, E3 リガーゼである Sherpa が同定された(10). 加えて, その分子の性質のさらなる解明

が必要ではあるが、既知 Toll 受容体リガンド Spz とは異なる、新たな Toll 受容体リガンドの同定が成された (12).

このような Toll 経路のシグナル伝達に関する現時点での理解を踏まえて、本研究では、残る IRAK ホモログである Tube を起点とした Myddosome 下流のシグナル伝達経路について、*ex vivo* RNAi スクリーニングを行った。これにより、一連の *ex vivo* の包括的 RNAi スクリーニングを完了させ、Toll 経路に関わる新規の遺伝子の同定を行い、その全貌を解明することを目指した。具体的には、Myddosome の構成因子として dMyd88 と Tube を同時に過剰発現した細胞を用いて RNAi スクリーニングを実施した。加えて、Myddosome から Cactus に至るまでの未知シグナル伝達分子が、dMyd88-Tube と一過性の複合体を形成するとの仮説のもと、Myddosome の共免疫沈降-ショットガン質量分析を実施し、シグナル伝達に関わるタンパク質を網羅的に同定した。この解析においては、複合体に含まれる因子の翻訳後修飾(リン酸化、ユビキチン化、SUMO[small ubiquitin-like modifier]化)についても検討した。最後に、これらの実験結果を併せたバイオインフォマティック解析を行うことにより、Myddosome 複合体の形成と下流のシグナル伝達の双方に関与する因子を同定することで、Toll 経路のシグナル伝達に関する理解をさらに深めることを試みた。

本論

第1章

網羅的ゲノムワイド RNAi スクリーニングを用いた Toll 経路に関わる シグナル伝達因子の同定と機能解析

ショウジョウバエにおける Toll 経路は、ショウジョウバエの背腹軸形成に重要な役割を果たしているため、このシグナル伝達が異常を来すと胚発生段階で致死となることが知られている (13)。このため、Toll 経路に関わるシグナル伝達因子を同定するために、成虫の自然免疫応答を指標とした *in vivo* の実験系を用いることは困難である。一方、Toll 経路が作動するショウジョウバエ由来の適切な培養細胞を用いて、*ex vivo* RNAi スクリーニングにより、包括的に各遺伝子発現の抑制が Toll 経路のシグナル伝達に与える影響を解析する手法は効果的であり、これまでに新規な因子同定に関する報告が本研究の共同研究者により成されている (10, 11)。本研究においては、同様のアプローチにより、Toll 受容体の細胞内ドメインに作用するアダプター因子である Tube を過剰発現させた DL1 細胞を用いてゲノムワイド RNAi スクリーニングを行い、これまでに得られている結果と合わせて解析を実施し、Toll 経路活性化機構について検討を行った。

第1節 ショウジョウバエ Myd88 遺伝子と Tube 遺伝子の共過剰発現により Toll 経路を活性化した細胞を用いたゲノムワイド RNAi スクリーニング

ショウジョウバエの Toll 経路に関わるこれまでに明らかにされていない因子を同定するために、共同研究者である狩野博士らは、*ex vivo* でのゲノムワイド RNAi スクリーニングを実施し、その結果を報告している (10, 11). これは、Toll アダプタータンパク質ショウジョウバエ Myd88 (*Drosophila* Myd88; dMyd88), 下流のプロテインキナーゼ Pelle, NF- κ B ホモログ Dif のいずれかを過剰発現させるか、あるいは哺乳類 NF- κ B 阻害因子 I κ B のショウジョウバエホモログである Cactus をノックダウンさせた DL1 細胞 (ショウジョウバエの後期胚由来の血球系接着細胞) を用いて、RNAi スクリーニングにより、網羅的に各遺伝子発現の抑制が Toll 経路のシグナル伝達に与える影響を解析するものである。本研究においては、この網羅的 RNAi スクリーニングを完結させるために、残る IRAK ホモログである Tube の過剰発現により Toll 経路を活性化させた DL1 細胞を用いて RNAi スクリーニングを実施することを試みた。これまでに、共同研究者らによる先行研究で、Tube 遺伝子を単独で過剰発現させただけでは Toll 経路は十分に活性化しないが、dMyd88 と Tube を共発現することによって、Tube を起点とした Myddosome 下流のシグナル伝達経路を活性化できることがわかってきた (10). そこで本研究においては、Tube と dMyd88 を共過剰発現させた DL1 細胞を用いて RNAi スクリーニングを実施した。本実験の概念を Fig. 2 に示す。スクリーニングは、*Drosophila* RNAi Screening Center (DRSC) から供与された、ショウジョウバエの約 15,000 遺伝子を網羅する dsRNA 分注済みの 384 well plate (DRSC 2.0) 上で、DL1 細胞に dsRNA と各発現ベクターをトランスフェクションすることにより実施した。なお、本

実験は共同研究者である狩野博士らにより実施され、解析は著者を主体として狩野博士を含む共同研究者らの補助のもとに実施した。

結果の解析を進める前に本スクリーニングにより得られるデータが既知の Toll シグナリング経路に關与するタンパク因子に依存したものであることを確認した (Fig. 3)。その結果、本スクリーニング系における Toll 経路の活性化は、ショウジョウバエにおけるもう一つの NF- κ B 経路である IMD 経路の因子に依存したものではなく、dMyd88 と Tube の下流における、細胞内 Toll 経路の主要な構成因子 (Dif, Deaf1, Iola, u-shaped, pannier 等) に依存したものであることが確認できた。このことから、本実験系は、*ex vivo* において Toll シグナリング経路に関わる因子の同定が可能である、有用なスクリーニング系であると考えられた。ただし、IMD 経路に関わる一部の因子 Relish, Ird5 等の dsRNA によりルシフェラーゼ活性が抑制されることが観察されており、本条件では、限定的ではあるが IMD 経路とのクロストークが起きていることが示唆された。

なお、本スクリーニングにおいては、Pelle のノックダウンによる阻害効果を基準とし、各アッセイプレートにおける中心値の 55% 以下の相対ルシフェラーゼ活性 (RLA) を与える遺伝子を候補因子とした。

第 2 節 ゲノムワイド RNAi スクリーニングにより同定された候補遺伝子の機能分類

本スクリーニングにより得られた 456 の候補遺伝子のリストを Table 1 に示す.

これらの遺伝子を The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID) bioinformatics resources 6.8 (14, 15)と, その後 National Center for Biotechnology Information (NCBI)にもとづくマニュアル編集により機能分類を行った.

その結果, 既知の Toll 経路構成因子, ユビキチン関連遺伝子, プロテインキナーゼ遺伝子等, 複数の機能グループに分類できる総計 454 の候補遺伝子が同定された (Fig. 4). これらのうち以下の解析で焦点を当てるプロテインキナーゼあるいはキナーゼドメインを含むタンパク, E3 リガーゼ, 既知の Toll 経路に関与する因子について Table 2, Table 3 にリストを示した. シグナル伝達に重要な役割を果たす可能性が高いプロテインキナーゼあるいはキナーゼドメインを含むタンパクの遺伝子が 21, Toll 経路に関わると考えられる既知の遺伝子が 7 同定された. さらに, 今回ユビキチンリガーゼ関連の遺伝子が 6 つ同定されたことは, 既に共同研究者らにより Toll 経路のシグナル伝達に E3 ユビキチンリガーゼ Sherpa が関与することが同定されている (10) ことに加えて, タンパクのユビキチン化が Toll 経路に深く関与していることを示唆しているものと考えられる.

今回, dMyd88-Tube の共発現による Drs の活性化を指標とした本スクリーニングにおいては, 他のスクリーニング (10)に比べて Pelle に対する依存性が低いことが示さ

れた (Fig. 5). このことは, Toll 伝達経路には Pelle 以外のプロテインキナーゼが主に
関与しているのではないかと疑問を投じることになり, バイオインフォマティクス解
析においてはプロテインキナーゼ関連遺伝子に焦点をあてることとした.

第3節 ゲノムワイド RNAi スクリーニングにより同定された候補遺伝子の RNAi 効果の確認

上述のゲノムワイド RNAi スクリーニングで, Toll 経路の活性化を RNAi で抑制することが確認された遺伝子, ならびに, 既報の結果により興味を持たれたプロテインキナーゼ関連遺伝子と一部タンパクリガーゼ関連遺伝子について, その RNAi の効果を改めて確認するために, dsRNA 調製のための最適なアンプリコンを選択し, プライマーを設計し, アンプリコン領域の遺伝子のクローニングを行った.

最適なアンプリコンの選択に際しては, Harvard Medical School の DRSC/TRiP Functional Genomics Resources にて増幅する遺伝子を検索, オフターゲットが少ないアンプリコンを選択した.

(クローニングした遺伝子は aur, CDK1, CDK12, mnb Doa, polo, MAPk-Ak2, Pitslre, hyd, effete, Ubc10)

遺伝子のクローニングに際して, プライマーには T7プロモーター配列を導入し, DL1 細胞由来の RNA を用いて合成した cDNA を鋳型とし, 目的とする遺伝子断片を PCR にて増幅し, 得られた断片を pCMVka ベクターにクローニングした.

こうしてクローニングした遺伝子を, プライマーを用いて PCR により増幅した cDNA を鋳型に, T7 RNA ポリメラーゼにより RNA を合成し, dsRNA を調製し, 種々の方法で Toll 経路を活性化した DL1 細胞を用いて RNAi の効果を確認することを計画した.

残念ながら、陽性コントロールとして用いた dsRNA の効果が十分に得られず、クローニングした候補遺伝子に関して現時点で RNAi 効果の確認には至っていない。

第 4 節 まとめと考察

ショウジョウバエの Toll 経路においては, Toll 受容体が活性化されると, その細胞内の TIR ドメイン (Toll/interleukin-1 receptor homology domain) と dMyd88 の TIR ドメインが相互作用し, 細胞内のシグナル伝達を開始される. 続いて, dMyd88 のデスドメイン (DD: death domain) に Tube の DD が相互作用し, DD を介したシグナル伝達を開始される. 最終的に, Tube と Pelle がそれぞれの DD 領域を介して集合し, 複合体を形成することで下流にシグナルを伝達することが分かっている (9).

今回, 共同研究者らによるこれまでのゲノムワイド RNAi スクリーニングに加えて, 上記に示すように中核的な Myddosome 構成因子である Tube の過剰発現により, Toll 経路を活性化することで, シグナル伝達の下流に関与する因子の同定を試みた. しかし, Tube 単独の過剰発現では Toll 経路の活性化が十分に起こらなかったことから (10), dMyd88 と Tube を共に過剰発現させることとした. この Tube 単独の過剰発現では Toll 経路の活性化が十分に起こらなかった理由としては, Tube の過剰発現だけでは Pelle へのシグナル伝達に必要な複合体 (Myddosome) の形成が不十分であり, Tube 上流で Myddosome 形成の場を提供する dMyd88 を共過剰発現することが必要であったとの解釈が妥当であると考えられる. 実際, dMyd88 と Tube を共発現した際, 細胞膜の細胞質側 (inner leaflet) に沿って局在することが示されている (10). 加えて, Tube は哺乳類 IRAK のホモログでありながら, そのキナーゼドメイン相当領域には配列相同性がなく, 機能未知の領域が存在している. もう一つの IRAK ホモログ Pelle はその単独の過剰発現で Toll 経路が活性化されることが報告されているが, Pelle はキ

ナーゼドメインを有することから, Pelle 単独の過剰発現でもその下流のシグナルを伝達することができるものと考えられる.

dMyd88 と Tube を共に過剰発現させた本検討においては, dMyd88 単独の過剰発現と比較して RNAi スクリーニングにおいてヒットする因子の多くは重複するものとなることが考えられたが, 実験結果は概ねその想定どおりのものとなった. すなわち, dMyd88 の過剰発現と同様に dMyd88, Tube, Dif, Deaf1, Drosomycin, u-shaped, lola のような遺伝子が本スクリーニングによってもヒットした. また, Pelle を過剰発現させた場合と比較すると Dif, Deaf1, Drosomycin, u-shaped, lola 等は共通のヒットとなった. 何れにしても Table 2, Table 3 に示したように, 多くのプロテインキナーゼあるいはキナーゼドメインを含むタンパクの遺伝子, ユビキチンリガーゼ関連の遺伝子が同定されたことから, Toll 経路におけるこれらの機能の重要性が改めて確認されたものと言える.

一方, 興味深いのは本スクリーニングにおいては Pelle の RNAi による Toll 経路活性化の減弱効果が弱いことであった. このことから Pelle 以外のプロテインキナーゼが Toll 経路のシグナル伝達に主に関与しているのではないかとの疑問が生じる. また, dMyd88 と Tube の共過剰発現により Toll 経路を活性化した場合には何らかの理由で Pelle に対する依存性が弱まっていることも考えられ, *ex vivo* で Pelle に対する他の amplicon を用いた RNAi 実験を実施する等, さらなる確認, 検討も必要と考えられる.

また, dMyd88 と Tube を共発現した本スクリーニングにおいては, dMyd88 単独の過剰発現スクリーニングで同定された Sherpa の RNAi による阻害効果が弱く, ヒットとはな

らなかった。このことは、Tube より下流のシグナル伝達においては、Sherpa の関与が相対的に低いこと、あるいは、異なる E3 リガーゼが関与していることを示唆している。実際、これまでの報告により、Tube の単独発現時と比べて、dMyd88 と Tube 共発現時ではユビキチン化を含む翻訳後修飾が Tube に生じていることが示唆されている (10)。本スクリーニングで同定されたプロテインキナーゼや E3 リガーゼが、上記の dMyd88 と Tube 共発現時における翻訳後修飾に関与する可能性について、今後さらなる検討が期待される。

第 2 章

共免疫沈降-質量分析による Toll 経路に関わるシグナル伝達因子の 同定

ショウジョウバエの Toll シグナルが活性化されると, Toll 受容体の下流にあるシグナル伝達因子である dMyd88, Toll, プロテインキナーゼの Pelle は Myddosome と呼ばれる複合体を形成する (9). この Myddosome と共免疫沈降する因子について, 質量分析を用いたプロテオーム解析に供することにより, Toll シグナル伝達経路の下流に関与する因子を同定できるのではないかと仮説に基づき解析を行った.

本検討の目的を考慮すると, 複合体 Myddosome が形成され, Toll 経路が活性化した状態で免疫沈降を行うことが重要と考えられる. これより, 本検討においては dMyd88 と Tube の両方のタンパクに同一のタグを付加して共過剰発現を行い, その細胞溶解液を用いて共免疫沈降実験を行なうこととした.

第 1 節 Myddosome 複合体の共免疫沈降-質量分析

共に C 末端に V5 タグを付加した dMyd88 と Tube を DL1 細胞で共過剰発現させることにより Toll シグナル経路を活性化させた状態で、タグを付加したタンパクが高い収率で回収される条件にて細胞を溶解後、抗 V5 抗体にて免疫沈降させ、その後、LC-MS 解析を実施することにより、免疫沈降されるタンパクの同定を行なった。実験の概略を Fig. 6 に示す。なお、本共免疫沈降実験は共同研究者である狩野博士らにより実施され、その質量分析は株式会社医学生物学研究所に委託して実施した。結果の解析は著者を主体として狩野博士を含む共同研究者らの補助のもとに実施した。

DL1 細胞に dMyd88 の C 末端に V5 タグを付加したタンパク発現用ベクターと、同様に Tube の C 末端に V5 タグを付加した発現用ベクターを共トランスフェクションし、一晚培養後、両タンパクの発現を誘導し、48 時間後に細胞を収集し、細胞溶解液を調製した。この細胞溶解液から抗 V5 ウサギポリクローナル抗体を結合させた磁気ビーズを用いて免疫沈降を行った。

沈降したタンパクは LC-MS³(3 段階質量分析)法によるショットガン質量分析に供した。すなわち、トリプシン処理によってペプチド断片に分解後、LC-MS にて得られた消化ペプチドのイオンスペクトルを測定した後に、collision-induced dissociation (CID) により得られるペプチド結合が開裂したペプチドフラグメントのプロダクトイオンスペクトルを解析し、さらにもう一段階この操作を加えることにより、二次プロダクトイオンスペクトラムを解析することで、今回の共免疫沈降実験のような多数のタンパクの混合物からそこに存在する個々のタンパクを高精度に同定する手法である (16)。

こうして得られるスペクトル情報を元にデータベース検索が成された結果、計 708 のタンパクが同定された。Table 3 に同定されたタンパクに関するパラメーターについて記載し、Table 4 に実際にショットガン質量分析により同定されたタンパクのリストを示す。この中で、Myddosome 構成因子である、Tube と Pelle が比較的強く検出されたことから、Tube を起点とするシグナル伝達経路とその制御因子が共免疫沈降されていると期待された。一方、dMyd88 のペプチド断片は同定に至っていなかった。この原因は、dMyd88 の膜結合性によるものと考えられる。これまでの報告により、dMyd88 の C 末端が細胞膜上のフォスファチジルイノシトール 2 リン酸に対する結合性を持つこと (17)、また、E3 リガーゼ Sherpa を介した K63 ユビキチン化によって dMyd88 が膜局在することが示唆されている (10)。以上の点をまとめると、今回の共免疫沈降産物のショットガン質量分析によって、Myddosome 構成因子のうち、dMyd88 によって動員された Tube から、その下流へのシグナル伝達に関与する因子が検出されていると考えられた。

第2節 共免疫沈降解析により同定された因子の機能分類

ショットガン質量分析により同定された 708 のタンパクを The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID) bioinformatics resources 6.8 と、その後 National Center for Biotechnology Information (NCBI)にもとづくマニュアル編集により機能分類を行った。

その結果、19 のキナーゼ関連タンパク、15 のリガーゼ関連分子、10 のホスファターゼが含まれていた (Fig. 7, Table 5)。Toll 伝達経路において、これらのタンパクの機能が重要な役割を担っていることが示唆された。なお、第1章で述べたゲノムワイドな RNAi スクリーニングにおいてホスファターゼが同定されていないことは、ホスファターゼの発現抑制がシグナル伝達にネガティブな影響を与えることは考えにくいことから理にかなっているものと考えられた。

第3節 共免疫沈降解析により同定された翻訳後修飾

前節で述べた共免疫沈降-質量分析の結果において、多数の翻訳後修飾を受けたペプチドが確認されている。本研究においては、翻訳後修飾の中でも、シグナル伝達において注目すべきリン酸化とユビキチン化に焦点を当てて解析を進めた。

まず、リン酸化ペプチドに注目すると、本解析において 68 のリン酸化ペプチドが同定された (Table 6)。これらのリン酸化ペプチドの中で、Tube タンパクの 226 番目と 229 番目の 2 つのアミノ酸部位がリン酸化されたペプチドが同定された (Fig. 8)。これまでに Tube がリン酸化を受けることが報告されているが (18)、リン酸化部位についての報告はない。本リン酸化が Toll 経路の活性化に重要な役割を担っている可能性が高い。なお、今回同定されたリン酸化を受ける 226 番目のセリンと 229 番目トレオニンは、共にデスドメインの C 末端側にあり、中性のセリンとプロリンが豊富な領域である。

次に、Tube のこれらのアミノ酸残基をリン酸化するプロテインキナーゼを推定するために、リン酸化を受ける部位近傍のアミノ酸の一次配列を基に、リン酸化するプロテインキナーゼを推測する GPS3.0 (Group-based Phosphorylation Scoring, ver 3.0) (19)を用いたモチーフ解析を行った。この解析の結果を Table 7 に示す。本解析から、今回同定された Tube の 2 つの部位にリン酸化をもたらすキナーゼの候補として polo キナーゼが挙げられる。興味深いことに、polo キナーゼは RNAi スクリーニングならびに共免疫沈降-質量分析の両方で同定されていることより、polo キナーゼによ

る Tube タンパクのリン酸化の可能性が高く、このリン酸化はシグナル伝達上の役割を担っているものと考えられた。

次にタンパクの分解ばかりではなく、シグナル伝達、タンパクの輸送等、多くの細胞内プロセスを制御することが分かっている翻訳後修飾であるユビキチン化、さらには SUMO (small ubiquitin-like modifier) 化に焦点を当てた。Table 8 に本解析の結果同定されたユビキチン化/SUMO 化を受けているペプチドのリストを示す。計 104 のユビキチン化/SUMO 化を受けているペプチドが同定されている。これらのペプチドの中で、polo キナーゼの 455 番目のリジンが修飾されていることが確認された。この修飾ではリジンのアミノ基にイソペプチド結合で Gln-Thr-Gly-Gly が結合したものが同定されている (Table 8)。この配列はショウジョウバエの Smt3/SUMO 由来のものであり、このリジン残基は SUMO 化されていることが明らかとなった。この 455 番目のリジンはリン酸化ペプチド結合ドメインである polo box ドメイン (PBD; polo box domain) 1 内に存在する (Fig. 9)。このことより、本 SUMO 化が polo キナーゼの機能に深く関わっていることが推測された。

第4節 まとめと考察

dMyd88 と Tube の双方に V5 タグを付加したタンパクを DL1 細胞で共過剰発現をし、その細胞溶解液から抗 V5 抗体にて Myddosome とともに共免疫沈降されるタンパク質をショットガン質量分析によるプロテオーム解析に供することで、計 708 のタンパクが同定された。多くのタンパクはいわゆるハウスキーピング関連のタンパク、細胞内存在量が多いタンパクと思われたが、そのような中、19 のプロテインキナーゼ関連タンパク、15 のユビキチン化/SUMO 化関連のタンパクリガーゼ、10 のフォスファターゼが同定されたことは極めて興味深い。

プロテインキナーゼ関連タンパクとフォスファターゼについては、Toll 経路のシグナル伝達にリン酸化が関与しており、重要な役割を担っていることが改めて示されたものと考えられる。なお、既に記したとおり、ゲノムワイドな RNAi スクリーニングにおいてホスファターゼが同定されていないことは理にかなっているものと考えられる。

また、ユビキチン化/SUMO 化関連のタンパクリガーゼについても、共同研究者により E3 ユビキチンリガーゼである Sherpa が Toll 経路のシグナル伝達に重要な役割を担っていることが明らかにされた(10)ことに加えて、さらなるユビキチン化/SUMO 化が関与している可能性を示しているものと考えられた。

以上の考えを支持する事実として、翻訳後修飾の解析においてリン酸化とユビキチン化/SUMO 化において明らかとなった以下の二点が注目される。

一点目はリン酸化ペプチドの解析より明らかとなった Tube のリン酸化である。プロテオーム解析により Myddosome と共免疫沈降するタンパク中に 68 のリン酸化ペプチドが確認されたが、その中に、Tube の 226 番目のセリンと 229 番目のトレオニンがリン酸化されたペプチド断片が同定された。Tube のリン酸化が Myddosome によるシグナル伝達に重要な役割を果たす可能性が報告されているが (18)。Toll 経路を活性化した DL1 細胞において実際に Toll のリン酸化部位を特定したことは意義深い。共同研究者らによって先行研究で検出された、dMyd88 共発現時に見られる Tube の翻訳後修飾の一部は (10)、これらのリン酸化を含んでいるものと考えられる。さらにリン酸化部位の配列を基に GPS3.0 (19)を用いたモチーフ解析を行ったところ、この 2 つのリン酸化部位はともに polo キナーゼによりリン酸化される可能性があることが他の候補とともに示された。polo キナーゼは RNAi スクリーニングならびに共免疫沈降-質量分析の両方で同定されていることより、polo キナーゼが Tube のリン酸化をもたらしており、このリン酸化が Toll 経路のシグナル伝達において重要な役割を担っているものと考えられた。

二点目はユビキチン化/SUMO 化を受けたペプチドの解析によるものである。本解析により 104 のユビキチン化/SUMO 化ペプチドが同定されたが、その中に polo キナーゼの 455 番目のリジンが SUMO 化されたペプチドが同定された。この 455 番目のリジンはリン酸化ペプチド結合ドメインである PBD1 内に存在する。このことより、本 SUMO 化が N 末端側にあるセリン/トレオニン プロテインキナーゼ活性に深く関わっていることが推測される。なお、RNAi スクリーニングで同定されている SUMO E1 酵素 Aos1

が polo キナーゼの SUMO 化に関与している可能性があるのではないかと考えられる.

本検討の結果同定された Tube のリン酸化, そのリン酸化を polo キナーゼが担っている可能性があること, その polo キナーゼのリン酸化ペプチド結合ドメインが SUMO 化されることを一連の流れとして捉えると, Toll 経路の活性化により polo キナーゼが SUMO 化を受け, その結果 polo キナーゼ活性が亢進し, polo キナーゼが Tube をリン酸化し, 下流にシグナルを伝達するというメカニズムが推定された.

第3章

Toll 経路に関与すると考えられる因子のバイオインフォマティクス解析

これまでにゲノムワイド RNAi スクリーニングと共免疫沈降-質量解析の結果を報告してきたが、これらのデータを併せてバイオインフォマティクス解析を行うことにより、Toll 経路のシグナル伝達のメカニズムをより詳細に理解することを試みた。

dMyd88 と Tube を共過剰発現させることにより Toll 経路を活性化した DL1 細胞を用いてゲノムワイド RNAi スクリーニングを行った結果により、Toll 経路に関与して、その遺伝子産物をノックダウンすることによりシグナル伝達が減弱される因子を同定した。また、これを Toll 経路のシグナル伝達の異なるレベルで活性化した共同研究者らによる報告と併せて検討することで、シグナル伝達に関与する因子のエピスタシス、すなわち上下関係を明らかにすることができる。

一方、Myddosome の共免疫沈降-質量分析により、Toll 経路を dMyd88 と Tube の共過剰発現で活性化した状態で Myddosome に物理的に相互作用する因子を同定するとともに、その因子に含まれる翻訳後修飾を同定した。

これらの情報を既に報告されている結果を含めて併せて解析することにより、Toll 経路のシグナル伝達のメカニズムをより詳細に解析することを試みた。以下に詳細を記す。

第1節 ゲノムワイド RNAi スクリーニング結果と共免疫沈降解析結果の バイオインフォマティクス解析

dMyd88 と Tube を共過剰発現させることにより Toll 経路を活性化した DL1 細胞を用いて実施したゲノムワイド RNAi スクリーニングのデータと、同様に dMyd88 と Tube の共過剰発現で活性化した状態で Myddosome との共免疫沈降-質量分析により得られたデータを併せて解析し、X 軸に免疫沈降物中に見出されたタンパクの質量分析におけるシグナル強度を、Y 軸にゲノムワイド RNAi スクリーニングで得られた RLA シグナルをプロットした (Fig. 10)。

共免疫沈降-質量分析で同定されたタンパク質をコードする遺伝子で、RNAi スクリーニングで RLA が低値を示したものにはプロテインキナーゼ関連遺伝子、ユビキチン化関連遺伝子が含まれており、これらの遺伝子でコードされるタンパクはシグナル伝達において役割を担っている可能性があると考えられ、Fig. 10 中にオレンジ色または赤色のドットで示し、遺伝子名を表示した。なお、同一遺伝子に複数の dsRNA アンプリコンを使用した場合には複数のドットで表示し、直線で繋いで示した。

特にキナーゼあるいはキナーゼ関連遺伝子として 14-3-3ε, polo, Cdk1, MAPk-Ak2, Cdk12, ユビキチン化/SUMO 化関連遺伝子として lig, hyd, eff 等が注目される。これらの遺伝子に関する考察は後述する。

なお、dMyd88, Tube とともに Myddosome 複合体を形成することが知られている Pelle (Fig. 10 中に赤色のドットで表示した) は共免疫沈降-質量分析で比較的強い質量分析におけるシグナル強度で同定された。一方で、第1章で触れたように RNAi ス

クリーニングにおいて, Pelle のノックダウンによっても, 50%以上のシグナル伝達能が残存していた. このことから, Pelle 以外の因子が Toll 経路のシグナル伝達に関与して, 寄与度を分け合っている可能性が示唆される. とくに, 前述のプロテインキナーゼ関連因子 (14-3-3 ϵ , polo, Cdk1, MAPk-Ak2, Cdk12) の中に, その候補が含まれていると考えられた.

第2節 Toll 経路に関与すると考えられるキナーゼ関連遺伝子

次に、今回共免疫沈降-質量分析で同定され、Toll 経路に関与すると考えられるキナーゼ関連遺伝子に注目し、共免疫沈降-質量分析で同定されたタンパクの質量分析におけるシグナル強度を X 軸に、共同研究者らにより報告されている幼虫由来のペプチド画分により刺激して Toll 経路を活性化した DL1 細胞を用いた RNAi スクリーニングで得られた RLA 値 (11) を Y 軸にプロットした (Fig. 11 A). 同様に、Fig. 11 B には dMyd88 の過剰発現により Toll 経路を活性化した DL1 細胞を用いた RNAi スクリーニングで得られた RLA 値 (10) を Y 軸に、Fig. 11 C では Pelle の過剰発現により Toll 経路を活性化した DL1 細胞を用いた RNAi スクリーニングの RLA 値 (10) を Y 軸に、Fig. 11 D では Dif の過剰発現により Toll 経路を活性化した DL1 細胞を用いた RNAi スクリーニングの RLA 値 (10) を Y 軸にプロットした. それぞれのグラフには遺伝子名を表示した. また、同一遺伝子に複数の dsRNA アンプリコンを使用した場合には複数のドットで表示し、直線で繋いで示した.

この解析から、例えば 14-3-3ε と polo は質量分析におけるシグナル強度は強く、かつ RNAi スクリーニングにおいて RLA 値が低いことから、この遺伝子は Myddosome の近位でシグナル伝達に関わっている可能性が高いと考えられた. さらに、Cdk1 は中程度の質量分析におけるシグナル強度を示し、Toll あるいは dMyd88 過剰発現による RNAi スクリーニングにおいて RLA 値が低いことから、やはり Cdk1 も Myddosome の近位で関与している可能性が示唆された. 一方、Cdk12 と MAPK-Ak2 は RLA 値は低いものの、質量分析におけるシグナル強度は低いことから、これらの遺伝子は Myddosome から比較的遠位で関与しているのではないかと推測された. Sgg は質量

分析におけるシグナル強度は強いが、相対的ルシフェラーゼ強度は中程度であることから、Myddosome と複合体を形成するものの、Toll シグナル伝達においてはその役割は小さいものと考えられた。また、Akt については質量分析におけるシグナル強度は低く、RLA 値も中程度であることから、Myddosome から比較的遠位で関与し、Toll シグナル伝達における役割も大きくないものと考えられた。したがって、Sgg や Akt は、Toll 経路本体よりも、異なる経路へのクロストークに関与している可能性がある。

これらの結果をまとめると、Toll 経路におけるキナーゼ関連分子の関与を Fig. 12 のように図示することができる。

第3節 まとめと考察

本章においては、第1章で述べた dMyd88 と Tube を共過剰発現させることにより Toll 経路を活性化した DL1 細胞を用いて実施したゲノムワイド RNAi スクリーニングのデータと、第2章で述べた dMyd88 と Tube の共過剰発現で活性化した状態で Myddosome との共免疫沈降-質量分析により得られたデータを併せて解析することで、特にキナーゼ関連遺伝子に注目して Toll 経路への関与、その役割について検討を行った。

本検討結果を解釈するにあたって、ゲノムワイド RNAi スクリーニングの結果は、Toll 経路のシグナル伝達における関与の程度を反映しているものと仮定した。一方、Myddosome との共免疫沈降-質量分析において得られたシグナルが強い場合には Myddosome の近位で、シグナルが弱い場合には Myddosome から比較的に遠位で Toll 経路のシグナル伝達に関与しているものと仮定し、Fig. 12 に概念図を示した。

今回の検討において polo, 14-3-3 ϵ , Cdk1, Cdk12, MAPk-Ak2, Sgg, Akt 等が Myddosome と物理的に相関し、Toll 経路のシグナル伝達に関与している可能性が高いことを示すことができた。

これらのキナーゼ関連因子のいくつかは、cyclin-dependent protein kinase (CDK)ファミリーに属しており、細胞周期の調節因子として知られているものである。今回の結果から、Toll シグナル伝達経路では、一部、細胞周期の制御とその構成要素を共有していることを示す知見と考えられる。細胞周期の調節機構も、ユビキチン化や

SUMO 化, リン酸化によって制御されており, 遺伝子数に限りがあるショウジョウバエが, 重要な生命現象を確実に回すための仕組みと考えると極めて興味深い. 分子進化的観点にもとづいた解析が今後期待される.

なお, 共同研究者らが種々の遺伝子を過剰発現させた DL1 細胞を用いて, ゲノムワイド RNAi スクリーニングを実施して, Toll 経路に関与することを明らかにした Pitslre, Doa, CKI α は本研究における RNAi スクリーニングにおいても陽性となった. これらの因子にも, CDK-related kinase (Pitslre), CDK-like kinase (Doa)として, CKD ファミリーが含まれており, 細胞周期制御因子のホモログの関与が示唆される. しかしながら, Myddosome の共免疫沈降-ショットガン質量分析においては, それらのペプチド断片は検出できなかった. このことより, これらの因子は Myddosome からより遠位で Toll 経路下流のシグナル伝達に深く関与しているものと考えられることができる.

今回の検討結果は, ゲノムワイド RNAi スクリーニングの結果が Toll 経路のシグナル伝達における関与の程度を反映しているものと仮定し, 共免疫沈降-質量分析において得られたシグナルが強い場合には Myddosome の近位で, シグナルが弱い場合には Myddosome から比較的に遠位で Toll 経路のシグナル伝達に関与しているものと仮定した上での結果である.

今回のような包括的なゲノムワイド RNAi スクリーニングによって, 異なる作用点 (dMyd88 過剰発現, Pelle 過剰発現など) から Toll 経路を活性化した場合を相互に比較することで, 全作用点に共通の因子や, 各々の作用点について固有の制御因子・クロストーク関連因子を, 区別して探索することができる. その一方で, ゲノムワイド

RNAi スクリーニングのライブラリーを利用したオミクス解析であるため、生理的な Toll 経路とは異なる現象を見ていることも否定できない。今後は本検討で見られた RNAi の効果を、改めて個別の RNAi 実験で確認することをはじめとして、in vivo での RNAi 効果の確認、さらにはハエ個体を用いた遺伝的な解析による検討が大いに期待される。また、共免疫沈降-ショットガン質量分析の結果についても、同定されたタンパクの絶対的存在量、Myddosome との相互作用におけるストイキオメトリー等が結果に影響を与えている可能性があることから、最終的には、生化学的手法等によって実際の結合性が検証されることが期待される。

図表とレジェンド

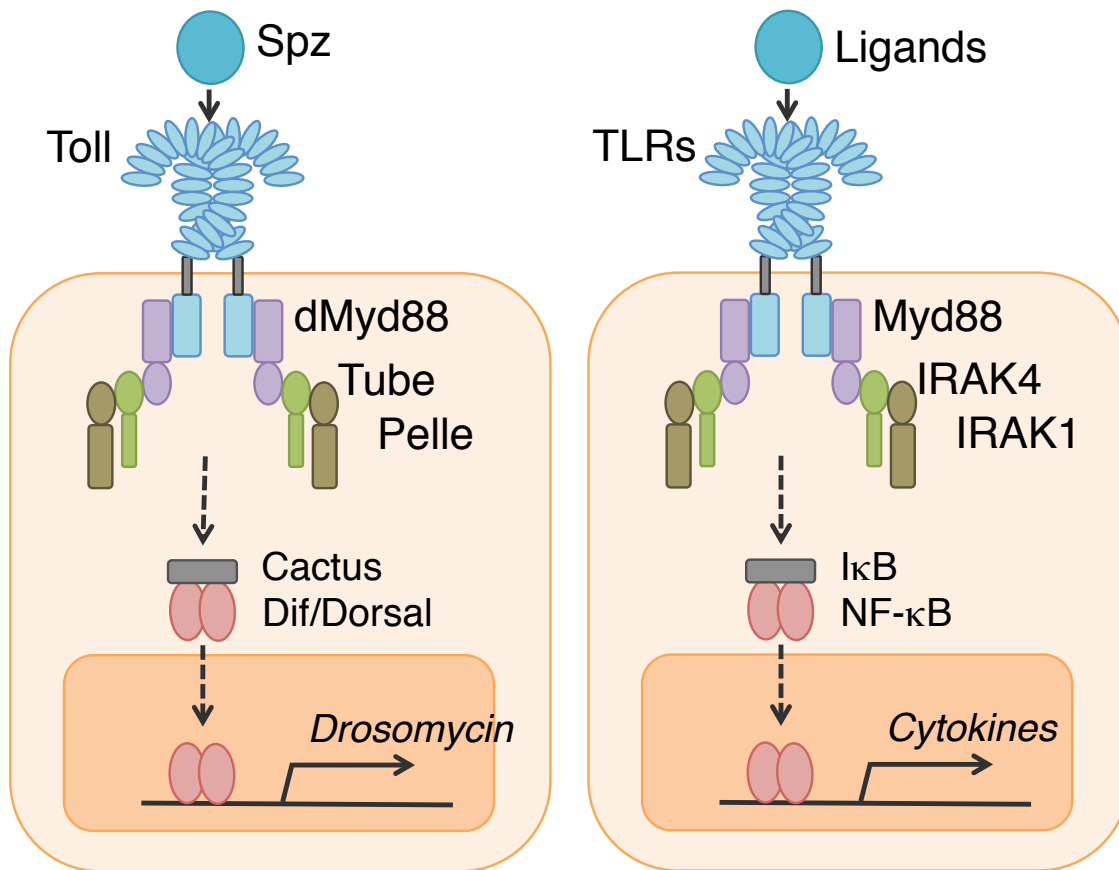


Fig. 1 ショウジョウバエ Toll 受容体と哺乳類 Toll 様受容体のシグナル伝達経路の概念図

ショウジョウバエ Toll 経路と哺乳類の Toll 様受容体 (TLRs: Toll-like receptors) の下流のシグナル伝達経路は、相同性の高いシグナル伝達因子によって構成され、最終的に哺乳類では NF- κ B, ショウジョウバエではそのホモログである Dif/Dorsal の活性化が起きる。この結果、哺乳類では炎症性サイトカインが産生され、ショウジョウバエでは *Drosomycin* 等の抗菌ペプチドが産生される。

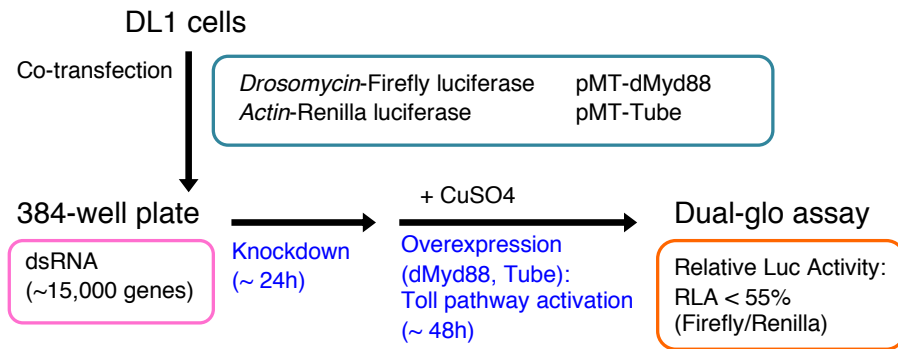


Fig. 2 ゲノムワイド RNAi スクリーニングの概念図

ショウジョウバエの約 15,000 遺伝子を網羅する dsRNA 分注済みの 384 well plate (DRSC 2.0) 上で, dsRNA および発現ベクター, レポーター遺伝子を共トランスフェクションした後, 過剰発現を誘導し, Toll 経路の活性化をルシフェラーゼアッセイによって検出した。

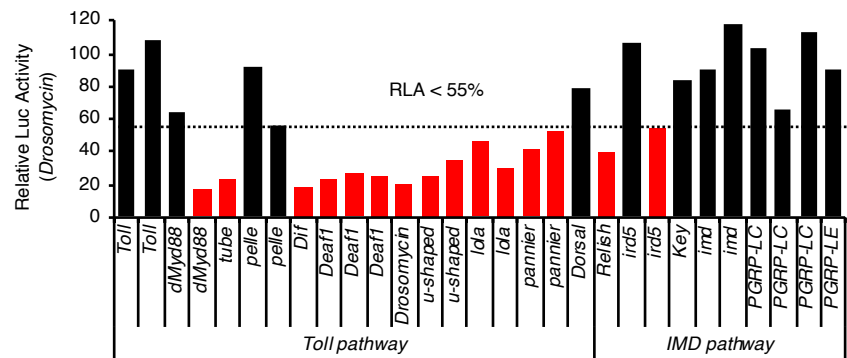


Fig. 3 既知の Toll 経路および IMD 経路の構成因子の RNAi スクリーニングの結果

dMyd88 と Tube を共に過剰発現させた DL1 細胞を用いた RNAi スクリーニングにおける既知の Toll 経路および IMD 経路の構成因子の相対ルシフェラーゼ活性 (RLA) 値を示す。破線は、RLA 閾値として設定した 55 % RLA を示しており、これより低値を示す遺伝子は候補遺伝子であると考えた。候補遺伝子は赤色のバーで示した。なお、同一遺伝子に複数の dsRNA アンプリコンを使用した場合には複数表示している。

14-3-3epsilon	CG1965	CG8176	kuz	sba
Acn	CG2010	CG8369	L_PRAS40	scra
AGO1	CG2061	CG8602	lig	Sdc
alphaTub84B	CG2162	CG8184	ilili	sens
ana	CG2233	CG9281	link	SF2
Aos1	CG2680	CG9372	Lk6	Sfp51E
arg	CG2709	CG9514	Lmpt	Sh
Arp1	CG2807	CG9624	lola	sip1
Arp3	CG30419	CG9649	m	Sirup
Arr2	CG30440	CG9667	Maf1	skd
Art7	CG31191	CG9676	Map205	sl
ary	CG31221	CG9686	MAPK-Ak2	Slh
ATP7	CG31300	CG9715	mat5	Slu7
Atr2	CG31321	CG9769	MED14	snf
Atxn7	CG31345	CG9773	MED15	Socs36E
b	CG31644	CG9795	MED19	Sox15
bbc	CG31712	CG9822	MED30	SP2353
betaTub85D	CG31813	CG9850	MED31	Sr-CII
Bub3	CG32000	Chd3	MED4	Srp54
Bx42	CG32204	Chrac-16	Mef2	ssx
c12.1	CG32457	Chn5	Mes2	Su(z)12
cad	CG32686	cib	ME5K2	Taf7
Cad96Cb	CG3292	Clalpha	Mfap1	Tango4
Caf1-105	CG33158	CR17025	mgl	Tao
Caf1-180	CG33169	CR31044	Mi-2	tara
Cam	CG33189	CR31845	Mi-2, Su(Tpl)	tbrd-1
CanB	CG33275	CR32385	Mif	Tfb4
Cat	CG33626	CR34046	mod	TRIA-L
Ccdc56, mtTfB1	CG33645	CR42736	mRpS6	TRIIB
Cdc27	CG34109	CR43478, CG14662	Mei6	Thread2 Control
Cdc5	CG34109	CR9337	Msp300	tlk
Cdk1	CG34125	crn	Mst36Fb	topi
Cdk12	CG34259	CTPsyn, CG45071	MTF-1	TpnC25D
CecA1	CG34383	cutlet	Mur82C	trus
Cen	CG34396	D19A	Myd88	trx
Cep89	CG34401	DAAM	nAChRalpha5	Trxr-1
CG10237	CG3528	Deaf1	Neto	tsr
CG10306	CG3542	Dh31-R	Neu2	tk
CG10425	CG3565	Df1	ng3	tub
CG10562	CG3655	Dip3	NijA	Ubc10
CG10570, CG42502	CG3795	dip	Nlg4	Unc-115b, p24-2, Unc-115a
CG10853	CG3880	Doa	Nlp	Unr
CG10924	CG4119	drd	obst-G	ush
CG11226	CG4199	Drs	Oscillin	v(2)k05816
CG1137	CG42258	dup	p24-1	velo
CG11379	CG42265	dx	pAbp	Vha36-2
CG11593	CG42268	east	pall	VhaPPA1-1
CG11898	CG42321	eff	Pop	vnr-1
CG1208	CG42361	Ehbp1	Pde1c	Vmat
CG1231	CG42458	elf3-S10	pdm2	Vps26
CG12343	CG4266	elf5B	Pttsire	Vps37B
CG12814	CG42684	ergic53	pix	wal
CG12885	CG42691	fand	Pka-C3	Wee1
CG13113	CG42720	Fer1	pnr	Wnt5
CG13298	CG42724	foi	polo	ytr
CG13364	CG42790	fru	ppk23	ZC3H3
CG13724	CG4294	Fs	PhBP	
CG13743	CG43316	fzy	Prosalpha6	
CG13889	CG43337	GABA-B-R2	PRY	
CG13972	CG43707	gce	ps	
CG14096	CG43759	GFP Control	PsF1	
CG14137	CG43980	Glut4EF	PsGEF	
CG14259	CG4546	GNBP1	puc	
CG14354	CG4691	G36b	pV3	
CG14464	CG4982	Grr-1	Rab10	
CG14488	CG5044	HDAC4	Rab5	
CG14490	CG5116	He	Rab8	
CG14543	CG5151	Hers	Rad51D	
CG14650	CG5399	Hers, amn	RasGAP1	
CG14743	CG5446	hiig	Rbf	
CG1504	CG5550	hiw	Rbp4	
CG15040	CG5882	Hlk	Rbp9	
CG15068	CG5938	hoip	Rbpn-5	
CG1513	CG6015	happy	Rcc1	
CG15139	CG6015	Hsc20	Rel	
CG15186	CG6272	Hsp60D	retn	
CG15239	CG6300	Hsp70Bc	Rgk1	
CG15296	CG6439	hth	Rheb	
CG15387	CG6659	hui	RhoGAP19D	
CG15399	CG6693	hyd	rig	
CG15423	CG6770	I-2	RnpS1	
CG15432	CG6843	IA-2	Rok	
CG15536	CG6950	iav	rols	
CG15741	CG7065	lbf2	Rph	
CG15812	CG7094	ldh	RpL10Ab	
CG15863	CG7135	inc	RpL13A	
CG1631	CG7140	Ino80	RpL15	
CG1665	CG7236	insb	RpL17	
CG16739	CG7326	Invadylisin	RpL37A	
CG16824	CG7368	Inv6	RpL4	
CG17027	CG7368	Ir100a	RpL7A	
CG17065	CG7453	Ir94c	Rpn1	
CG17169	CG7544	JIL-1	Rpn3	
CG17230	CG7879	Jon99Ciii	RpS14b	
CG17454	CG8008	jvl	Rpt1	
CG17801	CG8051	kek5	Rpt4	
CG17839	CG8060	kin17	Rpt5	
CG17912	CG8108	ki-5	Rrp6	
CG18061	CG8129	ket	Rtn2	
CG18661	CG8157	kto	s-cup	

Table 1 ゲノムワイド RNAi スクリーニングにより同定された 456 候補遺伝子のリスト

dMyd88 と Tube を共に過剰発現させた DL1 細胞を用いた RNAi スクリーニングの結果、陽性となった (RLA <55%) 候補遺伝子を示す。

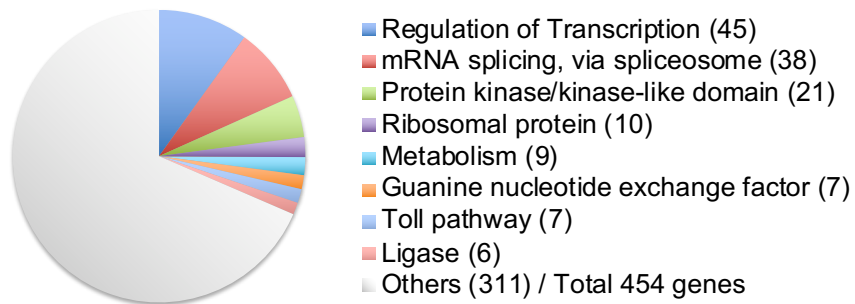


Fig. 4 ゲノムワイド RNAi スクリーニングにより同定された候補遺伝子の機能分類

本スクリーニングにより同定された候補遺伝子 454 を機能的注釈に基づいて分類した。円グラフは、遺伝子の機能グループ名および各グループに属する候補遺伝子の数を示す。機能分類は、DAVID Bioinformatics Resource 6.8 を用いた。

Annotation	Protein kinase/kinase-like domain	E3 ligase component	Toll pathway
Gene symbol	CG4546	dx	Myd88
	JIL-1	hyd	tub
	Doa	hiw	lola
	Wee1	Aos1	Dif
	hppy	eff	Deaf1
	Cklalpha	Ubc10	ush
	Lk6		pnr
	Rok		
	Pka-C3		
	MAPk-Ak2		
	tlk		
	Pitslre		
	Cdk12		
	Cdk1		
	CG7236		
	CG7094		
	Tao		
	polo		
	CG31300		
	CG7135		
	CG10562		

Table 2 ゲノムワイド RNAi スクリーニングにより同定された候補遺伝子のリスト

ゲノムワイド RNAi スクリーニングにより同定された候補遺伝子機能注釈解析の結果を示す。プロテインキナーゼ/キナーゼ様ドメインタンパク, E3 リガーゼおよび既知の Toll 経路成分に分類された候補遺伝子を示した。

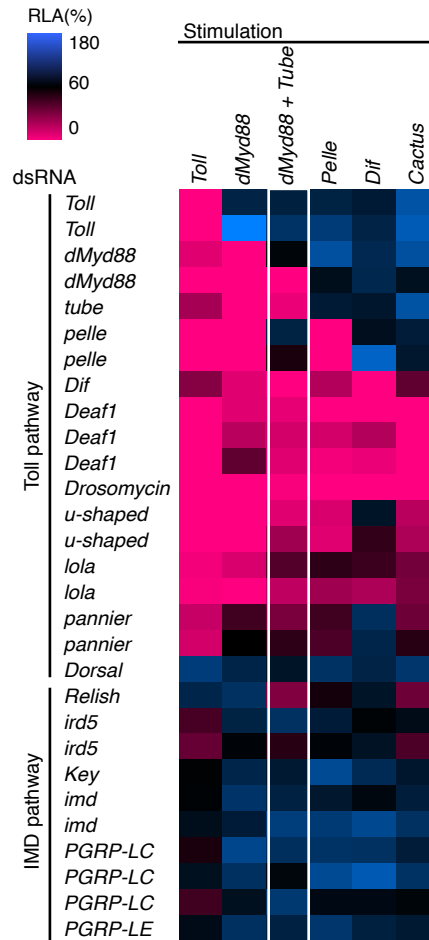


Fig. 5 Toll 経路および IMD 経路に関わる因子の RNAi による Toll 経路活性化に対する影響の確認

dMyd88 および Tube を共過剰発現する DL1 細胞(左から 3 番目の列)における包括的ゲノムワイド RNAi スクリーニングの結果から, Toll 経路および IMD 経路に関わる因子の RNAi による RAL 値への影響をヒートマップで示した. 横方向は, スクリーニングで刺激した因子をシグナル伝達の順序で示している. 白線で囲んだカラムが今回の検討結果であり, 他の列に示されているデータは共同研究者らにより得られた結果である(10). 赤色は中央値の 20%未満の RLA を示した遺伝子を示し, 黒色および青色は中央値の 60~180%の範囲の RLA を示した遺伝子を示す. 同一遺伝子に複数の dsRNA アンプリコンを使用した場合には複数表示している.

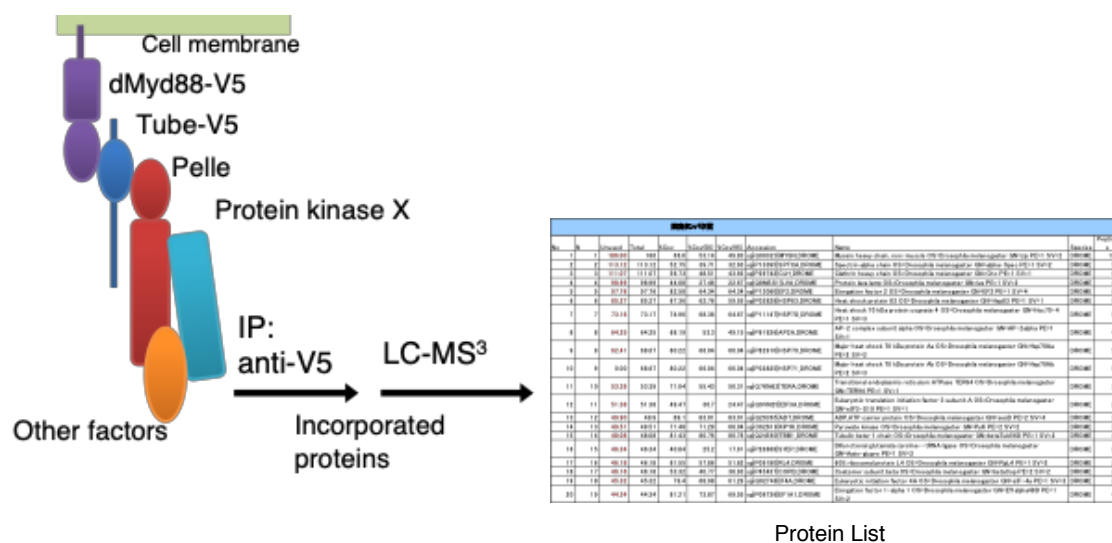


Fig. 6 Myddosome 複合体の共免疫沈降-ショットガン質量分析の模式図

V5 タグを付加した dMyd88 及び V5 タグを付加した Tube を共過剰発現した DL1 細胞の細胞溶解液を用いて抗 V5 抗体で免疫沈降させ、免疫沈降するタンパクを LC-MS³(3 段階質量分析)法により同定した.

同定タンパク質	
No	同定されたタンパクの通し番号
N	同定されたタンパクの信頼度の順位 順位が上位になるほど、信頼度の高いタンパクとなる
Unused	同定できたタンパクの信頼度を表した値 タンパクの同定に用いたペプチドの寄与度の合計値を示す 信頼度により、>2.0(赤), 2.0~1.3(青), ≤1.3(黒)、で色分けしている
Total	タンパクを構成するペプチド全ての寄与度の合計値を示す
%Cov	[% Coverage] データベース上に登録されているペプチド配列のアミノ酸と配列決定できたペプチド配列のアミノ酸の一致度(信頼性, 0 ~ <50)
%Cov(50)	データベース上に登録されているペプチド配列のアミノ酸と配列決定できたペプチド配列のアミノ酸の一致度(信頼性, 50 ~ <95)
%Cov(95)	データベース上に登録されているペプチド配列のアミノ酸と配列決定できたペプチド配列のアミノ酸の一致度(信頼性, ≥95)
Accession number	同定されたタンパクのアクセッションNo.
Names	同定されたタンパク名
Species	生物種を示す
Peptides	配列決定できたペプチド配列のうちアミノ酸の一致度が ≥95のペプチド数

Table 3 共免疫沈降-ショットガン質量分析により同定されたタンパクに関するパラメーターの一覧

Fig. 6 に示す Myddosome 複合体の共免疫沈降-ショットガン質量分析により同定されたタンパクに関するパラメーターの一覧を示す. 実際のリストを Table 4 に示す.

同定タンパク質										
No	N	Unused	Total	%Cov	%Cov(50)	%Cov(95)	Accession	Name	Species	Peptide s
1	1	186.00	186	66.6	53.14	49.83	sp Q99323 MYSN.DROME	Myosin heavy chain, non-muscle OS=Drosophila melanogaster GN=zip PE=1 SV=2	DROME	115
2	2	113.12	113.12	52.75	39.71	32.63	sp P13395 SPTCA.DROME	Spectrin alpha chain OS=Drosophila melanogaster GN=alpha-Spec PE=1 SV=2	DROME	59
3	3	111.07	111.07	56.73	48.51	43.92	sp P29742 CLH.DROME	Clathrin heavy chain OS=Drosophila melanogaster GN=Chc PE=1 SV=1	DROME	63
4	4	98.99	98.99	44.08	27.46	22.67	sp Q8MSS1 LVA.DROME	Protein lava lamp OS=Drosophila melanogaster GN=lva PE=1 SV=2	DROME	47
5	5	97.76	97.76	82.58	64.34	64.34	sp P13060 EF2.DROME	Elongation factor 2 OS=Drosophila melanogaster GN=EF2 PE=1 SV=4	DROME	67
6	6	85.27	85.27	67.36	62.76	59.55	sp P02828 HSP83.DROME	Heat shock protein 83 OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp83 PE=1 SV=1	DROME	58
7	7	73.16	73.17	74.96	68.36	64.67	sp P11147 HSP7D.DROME	Heat shock 70 kDa protein cognate 4 OS=Drosophila melanogaster GN=Hsc70-4 PE=1 SV=3	DROME	55
8	8	64.25	64.25	68.19	53.3	49.15	sp P91926 AP2A.DROME	AP-2 complex subunit alpha OS=Drosophila melanogaster GN=AP-2alpha PE=1 SV=1	DROME	41
9	9	62.41	68.67	80.22	66.04	66.04	sp P82910 HSP70.DROME	Major heat shock 70 kDa protein Aa OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp70Aa PE=2 SV=2	DROME	51
10	9	0.00	68.67	80.22	66.04	66.04	sp P02825 HSP71.DROME	Major heat shock 70 kDa protein Ab OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp70Ab PE=2 SV=3	DROME	51
11	10	53.39	53.39	71.04	55.43	50.31	sp Q7KN62 TERA.DROME	Transitional endoplasmic reticulum ATPase TER94 OS=Drosophila melanogaster GN=TER94 PE=1 SV=1	DROME	33
12	11	51.38	51.38	49.47	30.7	24.47	sp Q9VN25 EIF3A.DROME	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit A OS=Drosophila melanogaster GN=eIF3-S10 PE=1 SV=1	DROME	23
13	12	49.90	49.9	89.1	83.01	83.01	sp Q26365 ADT.DROME	ADP-ATP carrier protein OS=Drosophila melanogaster GN=sesB PE=2 SV=4	DROME	31
14	13	49.51	49.51	71.48	71.29	66.04	sp O62619 KPYK.DROME	Pyruvate kinase OS=Drosophila melanogaster GN=Pyk PE=2 SV=2	DROME	30
15	14	48.08	48.08	81.43	80.76	80.76	sp Q24560 TBB1.DROME	Tubulin beta-1 chain OS=Drosophila melanogaster GN=betaTub56D PE=1 SV=2	DROME	42
16	15	46.34	46.34	40.84	25.2	17.91	sp P28668 SYEP.DROME	Bifunctional glutamate/proline--tRNA ligase OS=Drosophila melanogaster GN=Aats-glupro PE=1 SV=2	DROME	22
17	16	46.18	46.18	81.55	57.86	51.62	sp P09180 RL4.DROME	60S ribosomal protein L4 OS=Drosophila melanogaster GN=RpL4 PE=1 SV=2	DROME	26
18	17	46.16	46.18	53.32	40.77	36.93	sp P45437 COPB.DROME	Cootamer subunit beta OS=Drosophila melanogaster GN=betaCOP PE=2 SV=2	DROME	25
19	18	45.32	45.32	79.4	68.98	61.29	sp Q02748 IFA4.DROME	Eukaryotic initiation factor 4A OS=Drosophila melanogaster GN=elf-4a PE=1 SV=3	DROME	28
20	19	44.34	44.34	81.21	73.87	69.55	sp P08736 EF1A1.DROME	Elongation factor 1-alpha 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Ef1alpha48D PE=1 SV=2	DROME	42
21	20	43.27	43.27	81.39	66.53	66.53	sp Q05825 ATPB.DROME	ATP synthase subunit beta, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=ATPsyn-beta PE=1 SV=3	DROME	31
22	21	43.02	43.02	64.05	52.53	52.53	sp O02649 CH60.DROME	60 kDa heat shock protein, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp60 PE=1 SV=3	DROME	25
23	22	42.93	42.93	68.45	57.41	47.32	sp P21187 PABP.DROME	Polyadenylate-binding protein OS=Drosophila melanogaster GN=pAbp PE=1 SV=3	DROME	25
24	23	42.05	42.05	75	75	71.28	sp P02572 ACT2.DROME	Actin-42A OS=Drosophila melanogaster GN=Act42A PE=1 SV=3	DROME	36
25	23	0.02	41.94	75	72.87	71.28	sp P84185 ACT5C.ANOGA	Actin-5C OS=Anopheles gambiae GN=Act5C PE=2 SV=1	ANOGA	36
26	23	0.02	41.94	75	72.87	71.28	sp P10987 ACT1.DROME	Actin-5C OS=Drosophila melanogaster GN=Act5C PE=1 SV=4	DROME	36
27	24	41.44	41.44	45.89	20.25	17.42	sp P15348 TOP2.DROME	DNA topoisomerase 2 OS=Drosophila melanogaster GN=Top2 PE=1 SV=1	DROME	20
28	25	38.63	38.63	54.23	39.94	33.53	sp P29845 HSP7E.DROME	Heat shock 70 kDa protein cognate 5 OS=Drosophila melanogaster GN=Hsc70-5 PE=1 SV=2	DROME	21
29	26	38.37	38.37	90.13	81.58	71.05	sp P41094 RS18.DROME	40S ribosomal protein S18 OS=Drosophila melanogaster GN=RpS18 PE=1 SV=1	DROME	38
30	27	37.79	37.79	32.91	17.09	12.79	sp Q9VUV9 U520.DROME	Putative U5 small nuclear ribonucleoprotein 200 kDa helicase OS=Drosophila melanogaster GN=K372Ab PE=2 SV=4	DROME	21
31	28	37.37	49.79	58.54	47.87	46.8	sp P29844 HSP7C.DROME	Heat shock 70 kDa protein cognate 3 OS=Drosophila melanogaster GN=Hsc70-3 PE=2 SV=2	DROME	34
32	29	37.06	37.06	70.67	66	63.78	sp P06603 TBA1.DROME	Tubulin alpha-1 chain OS=Drosophila melanogaster GN=alphaTub84B PE=2 SV=1	DROME	24
33	29	0.00	37.06	66.44	66	63.78	sp P06605 TBA3.DROME	Tubulin alpha-3 chain OS=Drosophila melanogaster GN=alphaTub84D PE=2 SV=1	DROME	24
34	30	36.00	36	43.33	35.01	26.7	sp O62621 COPB2.DROME	Cootamer subunit beta OS=Drosophila melanogaster GN=betaCOP PE=2 SV=2	DROME	17
35	31	35.96	35.96	61.95	48.16	43.2	sp P48605 TCPG.DROME	T-complex protein 1 subunit gamma OS=Drosophila melanogaster GN=Cctgamma PE=2 SV=2	DROME	20
36	32	35.78	35.78	82.93	75.2	71.95	sp Q06559 RS3.DROME	40S ribosomal protein S3 OS=Drosophila melanogaster GN=RpS3 PE=1 SV=1	DROME	23
37	33	35.39	35.39	63.42	60.82	60.82	sp P22812 TUBE.DROME	Protein Tube OS=Drosophila melanogaster GN=tub PE=1 SV=4	DROME	32
38	34	34.63	34.63	73.51	66.79	61.19	sp P55830 RS3A.DROME	40S ribosomal protein S3a OS=Drosophila melanogaster GN=RpS3A PE=1 SV=4	DROME	21
39	35	34.63	34.63	87.1	85.48	85.48	sp P02516 HSP23.DROME	Heat shock protein 23 OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp23 PE=2 SV=2	DROME	26
40	36	34.14	34.14	42.86	34.09	32.71	sp Q9VHP0 DDX3.DROME	ATP-dependent RNA helicase bel OS=Drosophila melanogaster GN=bel PE=1 SV=1	DROME	19
41	37	33.46	33.46	94.85	94.85	88.14	sp Q9V3P0 PRDX1.DROME	Peroxiredoxin 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Jafrac1 PE=1 SV=1	DROME	40
42	38	33.18	33.18	63.94	54.81	50.96	sp Q16797 RL3.DROME	60S ribosomal protein L3 OS=Drosophila melanogaster GN=RpL3 PE=1 SV=3	DROME	19
43	39	33.11	50.38	77.01	55.91	52.13	sp Q97125 HSP68.DROME	Heat shock protein 68 OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp68 PE=1 SV=1	DROME	31
44	40	30.92	30.92	66.29	58.8	55.81	sp P31009 RS2.DROME	40S ribosomal protein S2 OS=Drosophila melanogaster GN=RpS2 PE=1 SV=2	DROME	19
45	41	30.38	30.38	54.32	46.15	37.36	sp Q8T6B9 PUF68.DROME	Poly(U)-binding-splicing factor half pint OS=Drosophila melanogaster GN=puF68 PE=1 SV=2	DROME	17
46	42	30.35	30.35	54.53	40.22	37.32	sp P35381 ATPA.DROME	ATP synthase subunit alpha, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=blw PE=1 SV=2	DROME	17
47	43	29.76	29.76	62.09	52.93	44.78	sp P48592 RIR2.DROME	Ribonucleoside-diphosphate reductase subunit M2 OS=Drosophila melanogaster GN=RnrS PE=1 SV=2	DROME	23
48	44	29.40	29.4	46.86	31.36	25.43	sp P27619 DYN.DROME	Dynamin OS=Drosophila melanogaster GN=shi PE=1 SV=2	DROME	19
49	45	29.17	29.17	46.43	33.18	27.41	sp Q8I0G5 COPG.DROME	Cootamer subunit gamma OS=Drosophila melanogaster GN=gammaCOP PE=2 SV=1	DROME	17
50	46	28.33	28.33	56.37	43.27	41.29	sp P12613 TCPA.DROME	T-complex protein 1 subunit alpha OS=Drosophila melanogaster GN=T-cp1 PE=2 SV=2	DROME	18
51	47	28.10	28.1	34.62	21.96	18.91	sp Q9VKY2 CAND1.DROME	Cullin-associated NEDD8-dissociated protein 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Cand1 PE=2 SV=1	DROME	16
52	48	27.85	27.85	34.02	24.12	19.61	sp P22700 ATC1.DROME	Calcium-transporting ATPase sarcoplasmic/endoplasmic reticulum type OS=Drosophila melanogaster GN=Ca-P60A PE=1 SV=2	DROME	16
53	49	27.76	27.76	68.58	55.94	55.94	sp P41042 RS4.DROME	40S ribosomal protein S4 OS=Drosophila melanogaster GN=RpS4 PE=1 SV=2	DROME	21
54	50	27.54	27.54	64.08	45.92	42.65	sp P31409 VATB.DROME	V-type proton ATPase subunit B OS=Drosophila melanogaster GN=Vha55 PE=2 SV=1	DROME	15
55	51	27.32	27.32	61.25	47.6	44.28	sp P46223 RL7A.DROME	60S ribosomal protein L7a OS=Drosophila melanogaster GN=RpL7A PE=1 SV=2	DROME	15
56	52	26.86	26.86	74.32	52.84	40.42	sp Q24208 IF2G.DROME	Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 3 OS=Drosophila melanogaster GN=elf-2gamma PE=2 SV=1	DROME	14
57	53	26.48	26.48	56.1	40.55	35.83	sp Q44081 DKC1.DROME	H/ACA ribonucleoprotein complex subunit 4 OS=Drosophila melanogaster GN=Nop60B PE=1 SV=1	DROME	15
58	54	26.28	26.28	90.22	78.99	75.72	sp P24156 L2CC.DROME	Protein I(2)37Cc OS=Drosophila melanogaster GN=I(2)37Cc PE=2 SV=2	DROME	17
59	55	26.12	26.12	54.66	34.62	29.55	sp P25161 PSMD3.DROME	Probable 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 3 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpn3 PE=2 SV=1	DROME	13
60	56	25.73	25.73	86.45	65.36	60.54	sp P07487 G3P2.DROME	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase 2 OS=Drosophila melanogaster GN=Gapdh2 PE=1 SV=2	DROME	17
61	57	25.38	25.38	52.14	29.49	25.36	sp Q9GYU8 NUP88.DROME	Nuclear pore complex protein Nup88 OS=Drosophila melanogaster GN=mbo PE=1 SV=2	DROME	13
62	58	25.24	25.24	55.56	41.83	33.99	sp P23128 DDX6.DROME	Putative ATP-dependent RNA helicase me31b OS=Drosophila melanogaster GN=me31B PE=1 SV=3	DROME	14
63	59	25.05	25.05	27.6	10.14	7.421	sp Q9VEN1 FLNA.DROME	Filamin-A OS=Drosophila melanogaster GN=cher PE=1 SV=2	DROME	13
64	60	24.55	24.55	61.01	52.52	47.48	sp O18640 GBLP.DROME	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-like protein OS=Drosophila melanogaster GN=Rack1 PE=1 SV=2	DROME	14
65	61	24.48	24.48	46.19	38.24	32.99	sp P36179 2AAA.DROME	Serine/threonine-protein phosphatase PP2A 65 kDa regulatory subunit OS=Drosophila melanogaster GN=Pp2A-29B PE=2 SV=4	DROME	13

Table 4 共免疫沈降-ショットガン質量分析により同定されたタンパクのリスト

Myddosome 複合体の共免疫沈降-ショットガン質量分析により同定されたタンパクのリストを示す。計 708 のタンパクが同定されている。記載されているパラメーターについては Table 3 に示した。

同定タンパク質											
No	N	Unused	Total	%Cov	%Cov(50)	%Cov(95)	Accession	Name	Species	Peptide s	
66	62	24.28	26.37	48.68	31.99	22.53	sp P19109 DDX17.DROME	ATP-dependent RNA helicase p62 OS=Drosophila melanogaster GN=Rm62 PE=1 SV=3	DROME	12	
67	63	24.17	24.17	36.73	35.56	33.22	sp P14199 REF2P.DROME	Protein ref(2)P OS=Drosophila melanogaster GN=ref(2)P PE=1 SV=2	DROME	13	
68	64	23.95	23.95	83.51	71.13	71.13	sp Q9VA91 RS7.DROME	40S ribosomal protein S7 OS=Drosophila melanogaster GN=RpS7 PE=1 SV=1	DROME	13	
69	65	23.87	23.87	55.7	46.31	44.63	sp P91938 TRXR1.DROME	Thioredoxin reductase 1, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=Trxr-1 PE=1 SV=2	DROME	13	
70	66	23.40	23.4	47.68	31.74	26.23	sp Q0E940 EIF3B.DROME	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit B OS=Drosophila melanogaster GN=elf3-S9 PE=1 SV=1	DROME	13	
71	67	23.26	23.26	43.88	31.65	22.73	sp Q9VA73 CMC.DROME	Calcium-binding mitochondrial carrier protein Aralar1 OS=Drosophila melanogaster GN=alaral1 PE=2 SV=1	DROME	11	
72	68	23.14	23.14	70.63	51.98	42.86	sp P32100 RL7.DROME	60S ribosomal protein L7 OS=Drosophila melanogaster GN=RpL7 PE=1 SV=2	DROME	15	
73	69	23.04	23.04	45.91	33.04	28.22	sp Q9NFU0 FMR1.DROME	Fragile X mental retardation syndrome-related protein 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Fmr1 PE=1 SV=1	DROME	13	
74	70	22.92	22.92	38.92	37.5	33.73	sp Q27268 DX39B.DROME	ATP-dependent RNA helicase WM6 OS=Drosophila melanogaster GN=Hel25E PE=1 SV=1	DROME	11	
75	71	22.75	22.75	49.03	43.24	39.61	sp P20828 GAG2.DROME	Retrovirus-related Gag polyprotein from transposon 297 OS=Drosophila melanogaster GN=gag PE=4 SV=1	DROME	15	
76	72	22.66	22.66	70.64	55.23	49.71	sp Q9W1V3 FBRL.DROME	rRNA 2'-O-methyltransferase fibrillarin OS=Drosophila melanogaster GN=Fib PE=2 SV=1	DROME	16	
77	73	22.54	22.54	37.79	20.12	16.7	sp Q7KUT2 LONM.DROME	Lon protease homolog, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=Lon PE=1 SV=1	DROME	12	
78	74	22.31	22.31	52.11	37.03	32.15	sp P10405 GAGY.DROME	Retrovirus-related Gag polyprotein from transposon gypsy OS=Drosophila melanogaster GN=gag PE=4 SV=1	DROME	11	
79	75	22.09	22.09	66.22	35.79	35.79	sp P50887 RL22.DROME	60S ribosomal protein L22 OS=Drosophila melanogaster GN=RpL22 PE=1 SV=2	DROME	14	
80	76	22.01	22.01	65.18	53.35	53.35	sp P38979 RSSA.DROME	40S ribosomal protein SA OS=Drosophila melanogaster GN=sta PE=1 SV=2	DROME	15	
81	77	21.71	21.71	67.57	57.43	52.03	sp Q9W237 RS16.DROME	40S ribosomal protein S16 OS=Drosophila melanogaster GN=RpS16 PE=1 SV=1	DROME	14	
82	78	21.64	21.64	66.09	62.07	54.6	sp P02515 HSP22.DROME	Heat shock protein 22 OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp22 PE=1 SV=4	DROME	11	
83	79	21.61	21.61	60.31	41.01	37.28	sp Q9VH07 RUVB1.DROME	RuvB-like helicase 1 OS=Drosophila melanogaster GN=pont PE=1 SV=1	DROME	11	
84	80	21.40	21.4	64.1	50.77	38.46	sp P55935 RS9.DROME	40S ribosomal protein S9 OS=Drosophila melanogaster GN=RpS9 PE=1 SV=2	DROME	13	
85	81	21.08	21.08	67.56	53.82	47.33	sp P92177 I433E.DROME	14-3-3 protein epsilon OS=Drosophila melanogaster GN=14-3-3epsilon PE=1 SV=2	DROME	14	
86	82	21.04	21.04	34.95	16.81	13.41	sp A1ZAX1 EIF3C.DROME	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit C OS=Drosophila melanogaster GN=elf3-S8 PE=1 SV=1	DROME	11	
87	83	20.68	20.68	60.27	47.47	44.78	sp O01666 ATPG.DROME	ATP synthase subunit gamma, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=ATPSyngamma PE=2 SV=2	DROME	12	
88	84	20.64	20.64	92.05	67.55	67.55	sp P14130 RS14.DROME	40S ribosomal protein S14 OS=Drosophila melanogaster GN=RpS14a PE=1 SV=1	DROME	14	
89	85	20.45	20.45	53.09	35.02	25.57	sp Q27331 VATA2.DROME	V-type proton ATPase catalytic subunit A isoform 2 OS=Drosophila melanogaster GN=Vha68-2 PE=1 SV=2	DROME	11	
90	86	20.32	20.32	59.86	40.37	31.79	sp Q9NJH0 EF1G.DROME	Elongation factor 1-gamma OS=Drosophila melanogaster GN=Ef1gamma PE=2 SV=2	DROME	11	
91	87	20.21	20.21	41.8	35	31.4	sp P15007 ENO.DROME	Enolase OS=Drosophila melanogaster GN=Eno PE=1 SV=2	DROME	11	
92	88	20.19	20.19	26.28	21.36	21.36	sp Q8IN81 FRU.DROME	Sex determination protein fruitless OS=Drosophila melanogaster GN=fru PE=1 SV=1	DROME	14	
93	89	20.06	20.06	38.33	26.27	14.8	sp Q9V3P6 PSMD1.DROME	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpn2 PE=1 SV=1	DROME	11	
94	90	20.01	20.01	81.69	73.24	68.08	sp P02518 HSP27.DROME	Heat shock protein 27 OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp27 PE=1 SV=2	DROME	11	
95	91	20.00	20	37.81	31.86	30.13	sp Q94517 HDAC1.DROME	Histone deacetylase Rpd3 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpd3 PE=1 SV=2	DROME	12	
96	92	19.84	19.85	48.55	28.14	22.83	sp P08928 LAM0.DROME	Lamin Dm0 OS=Drosophila melanogaster GN=Lam PE=1 SV=4	DROME	11	
97	93	19.71	19.71	68.36	44.92	44.92	sp Q9V3G1 RL8.DROME	60S ribosomal protein L8 OS=Drosophila melanogaster GN=RpL8 PE=1 SV=1	DROME	14	
98	94	19.70	19.7	64.08	54.37	54.37	sp P05205 HP1.DROME	Heterochromatin protein 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Su(var)205 PE=1 SV=2	DROME	13	
99	95	19.44	19.44	18.62	12.07	12.07	sp Q86S05 LIQ.DROME	Protein lingerer OS=Drosophila melanogaster GN=lig PE=1 SV=1	DROME	11	
100	96	19.42	19.42	27.29	8.588	6.565	sp P05990 PYR1.DROME	CAD protein OS=Drosophila melanogaster GN=r PE=1 SV=3	DROME	9	
101	97	19.40	19.4	72.81	62.21	58.53	sp Q9VTP4 R10AB.DROME	60S ribosomal protein L10a-2 OS=Drosophila melanogaster GN=RpL10Ab PE=1 SV=2	DROME	16	
102	98	19.35	19.35	48.47	39.08	31.8	sp P52295 IMA.DROME	Importin subunit alpha OS=Drosophila melanogaster GN=Pen PE=1 SV=2	DROME	11	
103	99	18.56	18.56	36.04	24.39	21.01	sp Q9VSH4 CPSF6.DROME	Cleavage and polyadenylation specificity factor subunit CG7185 OS=Drosophila melanogaster GN=CG7185 PE=1 SV=2	DROME	10	
104	100	18.31	18.31	64.68	46.79	46.33	sp O61231 RL10.DROME	60S ribosomal protein L10 OS=Drosophila melanogaster GN=RpL10 PE=1 SV=1	DROME	10	
105	101	18.31	18.31	59.72	55.09	55.09	sp Q9V223 RAN.DROME	GTP-binding nuclear protein Ran OS=Drosophila melanogaster GN=Ran PE=1 SV=1	DROME	13	
106	102	18.13	18.13	63.91	50.3	47.34	sp O77460 IPYR.DROME	Inorganic pyrophosphatase OS=Drosophila melanogaster GN=Nurf-38 PE=1 SV=3	DROME	10	
107	103	18.12	18.12	42.09	36.74	35.12	sp Q24572 CAF1.DROME	Probable histone-binding protein Caf1 OS=Drosophila melanogaster GN=Caf1 PE=1 SV=1	DROME	10	
108	104	18.06	18.06	47.37	41	36.84	sp P07764 ALF.DROME	Fructose-bisphosphate aldolase OS=Drosophila melanogaster GN=Ald PE=1 SV=5	DROME	11	
109	105	17.95	17.95	73.33	56.08	52.94	sp O18404 HCD2.DROME	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase type-2 OS=Drosophila melanogaster GN=scu PE=1 SV=1	DROME	14	
110	106	17.91	17.95	27.09	19.27	17.46	sp P41073 PEP.DROME	Zinc finger protein on ecdysone puffs OS=Drosophila melanogaster GN=Pep PE=1 SV=1	DROME	9	
111	107	17.88	17.88	73.08	56.25	52.4	sp Q8MLY8 RS8.DROME	40S ribosomal protein S8 OS=Drosophila melanogaster GN=RpS8 PE=1 SV=1	DROME	14	
112	108	17.81	17.81	71.15	58.33	58.33	sp P15357 RS27A.DROME	Ubiquitin-40S ribosomal protein S27a OS=Drosophila melanogaster GN=RpS27A PE=1 SV=2	DROME	10	
113	109	17.39	17.39	68.95	55.26	52.11	sp P50882 RL9.DROME	60S ribosomal protein L9 OS=Drosophila melanogaster GN=RpL9 PE=1 SV=2	DROME	12	
114	110	17.04	17.04	64.74	57.69	46.79	sp P39018 RS19A.DROME	40S ribosomal protein S19a OS=Drosophila melanogaster GN=RpS19a PE=1 SV=3	DROME	9	
115	111	16.95	16.95	37.35	33.2	33.2	sp P17336 CATA.DROME	Catalase OS=Drosophila melanogaster GN=Cat PE=1 SV=2	DROME	11	
116	112	16.85	16.85	59.89	55.93	47.46	sp P41093 RL18A.DROME	60S ribosomal protein L18a OS=Drosophila melanogaster GN=RpL18A PE=1 SV=1	DROME	9	
117	113	16.60	16.6	58.72	42.66	42.66	sp P41126 RL13.DROME	60S ribosomal protein L13 OS=Drosophila melanogaster GN=RpL13 PE=1 SV=1	DROME	10	
118	114	16.46	16.46	45.84	38.95	36.58	sp P48809 RB27C.DROME	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein 27C OS=Drosophila melanogaster GN=Hrb27C PE=1 SV=2	DROME	10	
119	115	16.13	16.13	13.09	8.182	6.546	sp Q9W1X4 NU214.DROME	Nuclear pore complex protein Nup214 OS=Drosophila melanogaster GN=Nup214 PE=1 SV=2	DROME	8	
120	116	16.11	16.11	41.15	19.97	19.97	sp Q94523 SDHA.DROME	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein subunit, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=SDhA PE=2 SV=3	DROME	9	
121	117	16.04	18.42	54.89	33.89	24.12	sp Q9V3K3 RUVB2.DROME	RuvB-like helicase 2 OS=Drosophila melanogaster GN=rept PE=1 SV=1	DROME	10	
122	118	15.85	15.85	23.73	10.07	8.8	sp Q9V4C8 HCF.DROME	Host cell factor OS=Drosophila melanogaster GN=Hcf PE=1 SV=2	DROME	10	
123	119	15.44	15.44	65.07	59.33	44.02	sp P20432 GSTD1.DROME	Glutathione S-transferase D1 OS=Drosophila melanogaster GN=GstD1 PE=1 SV=1	DROME	10	
124	120	15.26	15.26	36.97	25	24.79	sp O46036 CTBP.DROME	C-terminal-binding protein OS=Drosophila melanogaster GN=CtBP PE=1 SV=3	DROME	10	
125	121	15.26	15.26	77.86	67.14	61.43	sp P48159 RL23.DROME	60S ribosomal protein L23 OS=Drosophila melanogaster GN=RpL23 PE=1 SV=2	DROME	13	
126	122	15.13	15.13	74.17	47.02	47.02	sp Q03334 RS13.DROME	40S ribosomal protein S13 OS=Drosophila melanogaster GN=RpS13 PE=1 SV=3	DROME	11	
127	123	14.98	14.98	45.23	27.95	25.45	sp O76324 DCO.DROME	Discs overgrown protein kinase OS=Drosophila melanogaster GN=dcg PE=1 SV=2	DROME	10	
128	124	14.74	14.74	39.11	24.8	21.57	sp P54399 PDI.DROME	Protein disulfide-isomerase OS=Drosophila melanogaster GN=Pdi PE=2 SV=1	DROME	7	
129	125	14.71	14.71	81.25	45.83	40.28	sp Q9VZS5 RL28.DROME	60S ribosomal protein L28 OS=Drosophila melanogaster GN=RpL28 PE=1 SV=1	DROME	7	
130	126	14.65	14.65	77.86	61.07	61.07	sp P17704 RS17.DROME	40S ribosomal protein S17 OS=Drosophila melanogaster GN=RpS17 PE=1 SV=2	DROME	12	

Table 4 共免疫沈降-ショットガン質量分析により同定されたタンパクのリスト(続き)

同定タンパク質											
No	N	Unused	Total	%Cov	%Cov(50)	%Cov(95)	Accession	Name		Species	Peptide s
131	127	14.61	14.61	48.77	39.75	35.25	splQ9XZJ4 PSA6.DROME	Proteasome subunit alpha type-6 OS=Drosophila melanogaster GN=Prosalpha1 PE=1 SV=2		DROME	8
132	128	14.34	14.74	77.7	57.43	57.43	splP45594 CADF.DROME	Cofilin/actin-depolymerizing factor homolog OS=Drosophila melanogaster GN=tsr PE=2 SV=1		DROME	11
133	129	14.28	14.28	40.48	20.73	17.91	splQ9VFC8 QYS.DROME	Glycogen [starch] synthase OS=Drosophila melanogaster GN=GlyS PE=1 SV=2		DROME	8
134	130	13.91	13.91	44.05	33.63	28.87	splP08181 CSK2A.DROME	Casein kinase II subunit alpha OS=Drosophila melanogaster GN=CklIIalpha PE=1 SV=2		DROME	7
135	131	13.88	13.88	57.4	30.77	27.81	splQ9U9Q4 EIF3H.DROME	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit H OS=Drosophila melanogaster GN=eIF-3p40 PE=2 SV=2		DROME	8
136	132	13.86	13.86	55.72	46.69	33.43	splQ95028 LDH.DROME	L-lactate dehydrogenase OS=Drosophila melanogaster GN=ImpL3 PE=2 SV=1		DROME	8
137	133	13.83	13.83	42.02	42.02	29.14	splO02195 EIF3I.DROME	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit I OS=Drosophila melanogaster GN=Trip1 PE=1 SV=1		DROME	7
138	134	13.69	13.69	58.89	29.71	24.67	splQ9VWH4 IDH3A.DROME	Probable isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit alpha, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=K1Q0156 PE=2 SV=1		DROME	9
139	135	13.53	13.53	75.47	61.01	40.25	splQ9GU68 IF5A.DROME	Eukaryotic translation initiation factor 5A OS=Drosophila melanogaster GN=eIF-5A PE=2 SV=2		DROME	9
140	136	13.42	13.42	59.44	48.25	43.36	splQ8T3U2 RS23.DROME	40S ribosomal protein S23 OS=Drosophila melanogaster GN=RpS23 PE=1 SV=1		DROME	7
141	137	13.37	13.37	21.27	9.158	6.425	splQ9VKK1 EDC4.DROME	Enhancer of mRNA-decapping protein 4 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Ge-1 PE=1 SV=2		DROME	7
142	138	13.35	13.35	32.18	25.06	22.99	splO77410 EIF3E.DROME	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit E OS=Drosophila melanogaster GN=eIF3-S6 PE=2 SV=1		DROME	8
143	139	13.32	13.32	44.16	32.81	32.81	splP19889 RLA0.DROME	60S acidic ribosomal protein P0 OS=Drosophila melanogaster GN=RpLP0 PE=1 SV=1		DROME	7
144	140	13.14	13.14	61.81	50.75	46.73	splQ05856 RSMB.DROME	Small nuclear ribonucleoprotein-associated protein B OS=Drosophila melanogaster GN=Smb PE=1 SV=1		DROME	11
145	141	12.98	12.98	63.31	34.63	32.56	splQ7JV13 EIF3M.DROME	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit M OS=Drosophila melanogaster GN=Tango7 PE=2 SV=1		DROME	9
146	142	12.87	12.87	61.44	61.44	61.44	splP61851 SODC.DROME	Superoxide dismutase [Cu-Zn] OS=Drosophila melanogaster GN=Sod PE=1 SV=2		DROME	7
147	143	12.83	15.88	58.06	48.79	41.94	splP29310 1433Z.DROME	14-3-3 protein zeta OS=Drosophila melanogaster GN=14-3-zeta PE=1 SV=1		DROME	10
148	144	12.80	12.83	58.09	31.66	18.22	splQ9VL78 FKB59.DROME	FK506-binding protein 59 OS=Drosophila melanogaster GN=FKBP59 PE=1 SV=1		DROME	6
149	145	12.79	12.83	43.36	27.74	19.35	splQ9I7S8 PUR6.DROME	Multifunctional protein ADE2 OS=Drosophila melanogaster GN=ade5 PE=2 SV=2		DROME	7
150	146	12.76	12.76	33.21	20.41	16.7	splQ9VTU4 EIF3L.DROME	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit L OS=Drosophila melanogaster GN=CG5642 PE=2 SV=1		DROME	7
151	147	12.47	12.47	53.55	47.1	35.48	splQ0E9B8 RS11.DROME	40S ribosomal protein S11 OS=Drosophila melanogaster GN=RpS11 PE=1 SV=1		DROME	8
152	148	12.41	12.41	29.71	19.71	13.97	splQ9VVI2 EDC3.DROME	Enhancer of mRNA-decapping protein 3 OS=Drosophila melanogaster GN=Edc3 PE=1 SV=1		DROME	7
153	149	12.39	12.39	87.3	87.3	80.16	splP25843 PROF.DROME	Profilin OS=Drosophila melanogaster GN=chic PE=1 SV=1		DROME	9
154	150	12.12	12.12	51.97	34.41	31.54	splP12881 PSA1.DROME	Proteasome subunit alpha type-1 OS=Drosophila melanogaster GN=Prosalpha6 PE=1 SV=1		DROME	7
155	151	12.02	12.02	51.88	41.87	41.87	splQ9VWG3 RS10B.DROME	40S ribosomal protein S10b OS=Drosophila melanogaster GN=RpS10b PE=1 SV=2		DROME	6
156	152	12.00	12	29.89	16.12	15.02	splQ24179 SLY1.DROME	Protein sly1 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Slh PE=2 SV=4		DROME	7
157	153	11.96	11.96	32.63	18.35	13.98	splQ9VXN4 SYRC.DROME	Probable arginine--tRNA ligase, cytoplasmic OS=Drosophila melanogaster GN=Aats-arg PE=2 SV=1		DROME	8
158	154	11.90	11.9	31.53	17.49	9.729	splP48591 RR1.DROME	Ribonucleoside-diphosphate reductase large subunit OS=Drosophila melanogaster GN=RnrL PE=1 SV=2		DROME	6
159	155	11.89	11.89	72.34	51.06	42.02	splQ9VS34 RL18.DROME	60S ribosomal protein L18 OS=Drosophila melanogaster GN=RpL18 PE=1 SV=1		DROME	7
160	156	11.87	11.87	46.49	29.77	23.75	splQ9W5R8 RL5.DROME	60S ribosomal protein L5 OS=Drosophila melanogaster GN=RpL5 PE=1 SV=2		DROME	6
161	157	11.72	11.72	47.28	24.88	20.84	splQ9VUQ5 AGO2.DROME	Protein argonaute-2 OS=Drosophila melanogaster GN=AGO2 PE=1 SV=3		DROME	7
162	158	11.69	11.69	42.65	29.16	20.48	splQ01604 PGK.DROME	Phosphoglycerate kinase OS=Drosophila melanogaster GN=Pgk PE=2 SV=2		DROME	6
163	159	11.58	11.58	49.82	30.4	30.4	splQ9VXK0 NIPSN.DROME	Protein NipSnap OS=Drosophila melanogaster GN=NipSnap PE=2 SV=2		DROME	7
164	160	11.52	11.52	64.46	40.36	34.34	splP55841 RL14.DROME	60S ribosomal protein L14 OS=Drosophila melanogaster GN=RpL14 PE=1 SV=1		DROME	7
165	161	11.37	11.37	47.68	35.43	30.79	splP12982 PP12.DROME	Serine/threonine-protein phosphatase alpha-2 isoform OS=Drosophila melanogaster GN=Pp1-87B PE=1 SV=1		DROME	9
166	162	11.31	11.31	39.1	16.16	12.28	splQ9V3C0 DDX41.DROME	ATP-dependent RNA helicase abstrakt OS=Drosophila melanogaster GN=abs PE=1 SV=1		DROME	6
167	163	11.30	11.3	34.63	29.09	19.67	splQ9V3J8 WDS.DROME	Protein will die slowly OS=Drosophila melanogaster GN=wds PE=1 SV=1		DROME	6
168	164	11.28	11.28	46.74	39.67	39.67	splP46222 RL11.DROME	60S ribosomal protein L11 OS=Drosophila melanogaster GN=RpL11 PE=1 SV=2		DROME	9
169	165	11.27	11.27	71.71	22.93	22.93	splQ9VNE9 RL13A.DROME	60S ribosomal protein L13a OS=Drosophila melanogaster GN=RpL13A PE=1 SV=1		DROME	6
170	166	11.14	11.14	24.73	8.608	7.511	splP23226 MA205.DROME	205 kDa microtubule-associated protein OS=Drosophila melanogaster GN=Map205 PE=1 SV=2		DROME	6
171	167	11.06	11.06	73.95	63.03	56.3	splQ9V110 SMD2.DROME	Probable small nuclear ribonucleoprotein Sm D2 OS=Drosophila melanogaster GN=Smd2 PE=1 SV=1		DROME	8
172	168	10.97	10.97	59.01	36.49	36.49	splO96827 EF1B.DROME	Probable elongation factor 1-beta OS=Drosophila melanogaster GN=Ef1beta PE=1 SV=3		DROME	6
173	169	10.89	10.89	41.33	19.37	12.55	splP13469 MODU.DROME	DNA-binding protein modulo OS=Drosophila melanogaster GN=mod PE=1 SV=2		DROME	6
174	170	10.57	10.57	64.71	51.63	45.75	splP08879 NDKA.DROME	Nucleoside diphosphate kinase OS=Drosophila melanogaster GN=awd PE=1 SV=3		DROME	9
175	171	10.51	10.51	47.3	40.09	29.28	splQ9W2D9 EIF3K.DROME	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit K OS=Drosophila melanogaster GN=CG10306 PE=2 SV=1		DROME	5
176	172	10.37	10.37	75.38	54.62	54.62	splP48149 RS15A.DROME	40S ribosomal protein S15Aa OS=Drosophila melanogaster GN=RpS15Aa PE=1 SV=2		DROME	7
177	173	10.29	10.29	44	30.29	30.29	splQ9W0P5 GALE.DROME	UDP-glucose 4-epimerase OS=Drosophila melanogaster GN=Gale PE=1 SV=1		DROME	7
178	174	10.18	10.18	26.93	12.72	6.842	splQ9XYZ5 DDB1.DROME	DNA damage-binding protein 1 OS=Drosophila melanogaster GN=pic PE=1 SV=1		DROME	5
179	175	10.15	10.15	41.65	27.76	16.45	splQ9V3G7 PSMD6.DROME	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 6 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpn7 PE=2 SV=1		DROME	5
180	176	10.12	10.12	76.75	54.39	53.51	splQ24186 RS5A.DROME	40S ribosomal protein S5a OS=Drosophila melanogaster GN=RpS5a PE=1 SV=1		DROME	8
181	177	10.02	10.03	34.03	12.67	12.67	splP52304 POLO.DROME	Serine/threonine-protein kinase polo OS=Drosophila melanogaster GN=polo PE=1 SV=2		DROME	5
182	178	10.01	10.01	19.46	9.842	9.842	splO18388 IMB.DROME	Importin subunit beta OS=Drosophila melanogaster GN=Fs(2)Ket PE=2 SV=2		DROME	5
183	179	9.77	9.77	15.09	8.325	6.66	splQ9I7D3 CAPR1.DROME	Caprin homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Capr PE=1 SV=1		DROME	5
184	180	9.76	9.76	56.05	29.38	20.49	splO18413 PRSR.DROME	26S protease regulatory subunit 8 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpt6 PE=1 SV=2		DROME	6
185	181	9.72	9.72	20.24	8.737	6.055	splQ02645 HTS.DROME	Protein hu-li tai shao OS=Drosophila melanogaster GN=hts PE=1 SV=2		DROME	5
186	182	9.72	9.72	46.53	20.31	20.31	splQ24276 CDC37.DROME	Hsp90 co-chaperone Cdc37 OS=Drosophila melanogaster GN=Cdc37 PE=1 SV=1		DROME	6
187	183	9.69	9.7	34.83	15.59	15.59	splQ24492 RFA1.DROME	Replication protein A 70 kDa DNA-binding subunit OS=Drosophila melanogaster GN=RpA-70 PE=1 SV=1		DROME	8
188	184	9.67	9.67	26.02	7.465	5.987	splP00967 PUR2.DROME	Trifunctional purine biosynthetic protein adenosine-3 OS=Drosophila melanogaster GN=ade3 PE=1 SV=2		DROME	5
189	185	9.63	9.63	33.82	9.275	8.406	splQ23979 MY61F.DROME	Myosin-IB OS=Drosophila melanogaster GN=Myo61F PE=1 SV=3		DROME	5
190	186	9.56	9.56	17.89	7.82	7.82	splQ9XTL9 PYQ.DROME	Glycogen phosphorylase OS=Drosophila melanogaster GN=GlyP PE=2 SV=2		DROME	5
191	187	9.52	9.52	61.72	35.94	29.3	splQ9VL18 EF1D.DROME	Probable elongation factor 1-delta OS=Drosophila melanogaster GN=eEF1delta PE=1 SV=1		DROME	5
192	188	9.49	9.49	27.33	24.42	24.42	splQ08473 SQD.DROME	RNA-binding protein squid OS=Drosophila melanogaster GN=sqd PE=1 SV=3		DROME	7
193	189	9.47	9.47	49.83	24.58	22.26	splQ9VIM5 ARPC2.DROME	Actin-related protein 2/3 complex subunit 2 OS=Drosophila melanogaster GN=Arpc2 PE=2 SV=2		DROME	5
194	190	9.43	9.43	46.26	40.97	25.99	splP25007 PIPA.DROME	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase OS=Drosophila melanogaster GN=Cyp1 PE=1 SV=2		DROME	6
195	191	9.32	9.32	46.73	27.89	25.63	splO18373 SPS1.DROME	Selenide, water dikinase OS=Drosophila melanogaster GN=SeID PE=2 SV=1		DROME	6

Table 4 共免疫沈降-ショットガン質量分析により同定されたタンパクのリスト(続き)

同定タンパク質										
No	N	Unused	Total	%Cov	%Cov(50)	%Cov(95)	Accession	Name	Species	Peptide s
196	192	9.29	9.29	39.74	29.74	18.21	sp Q9V3D2 HEM6.DROME	Oxygen-dependent coporphyrinogen-III oxidase OS=Drosophila melanogaster GN=CoproX PE=1 SV=1	DROME	5
197	193	9.25	9.25	52.65	36.28	27.43	sp P54611 VATE.DROME	V-type proton ATPase subunit E OS=Drosophila melanogaster GN=Vha26 PE=2 SV=1	DROME	5
198	194	9.20	9.2	57.39	27.83	27.83	sp P49630 RL36.DROME	60S ribosomal protein L36 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpl36 PE=1 SV=1	DROME	5
199	195	9.17	9.17	45.86	18.28	14.83	sp Q9VL63 U430.DROME	UPF0430 protein CG31712 OS=Drosophila melanogaster GN=CG31712 PE=1 SV=3	DROME	6
200	196	9.15	9.15	19.44	5.804	4.126	sp Q9VMA7 TGO1.DROME	Transport and Golgi organization protein 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Tango1 PE=1 SV=2	DROME	5
201	197	9.15	9.15	30.96	16.22	16.22	sp P91929 NDUAA.DROME	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 10, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=ND-42 PE=2 SV=2	DROME	5
202	198	9.03	9.03	67.96	50.49	50.49	sp P84040 H4.DROME	Histone H4 OS=Drosophila melanogaster GN=His4 PE=1 SV=2	DROME	6
203	199	8.94	8.94	82.31	73.47	65.31	sp P54357 MLC2.DROME	Myosin-2 essential light chain OS=Drosophila melanogaster GN=Mlc-c PE=1 SV=1	DROME	6
204	200	8.84	8.84	32.38	15.1	12.42	sp Q9VIV3 RAGP1.DROME	Ran GTPase-activating protein OS=Drosophila melanogaster GN=RanGAP PE=1 SV=1	DROME	5
205	201	8.83	8.84	35.71	26.43	23.57	sp Q9VNV50 EI3F1.DROME	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit F-1 OS=Drosophila melanogaster GN=eIF3-S5-1 PE=2 SV=1	DROME	6
206	202	8.77	8.77	29.38	19.51	16.05	sp O01367 HOW.DROME	Protein held out wings OS=Drosophila melanogaster GN=how PE=1 SV=1	DROME	5
207	203	8.76	8.76	53.16	29.54	29.54	sp Q7KVQ0 GAR1.DROME	Probable H/ACA ribonucleoprotein complex subunit 1 OS=Drosophila melanogaster GN=CG4038 PE=1 SV=1	DROME	5
208	204	8.72	8.72	59.88	24.85	16.77	sp Q24133 DNAJ1.DROME	DnaJ protein homolog 1 OS=Drosophila melanogaster GN=DnaJ-1 PE=1 SV=3	DROME	4
209	205	8.70	8.7	60.4	45.64	31.54	sp P41092 RL27A.DROME	60S ribosomal protein L27a OS=Drosophila melanogaster GN=Rpl27A PE=1 SV=2	DROME	5
210	206	8.67	8.67	40.19	22.5	17.69	sp Q7KW39 MMSA.DROME	Probable methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase [acylating], mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=CG17896 PE=2 SV=1	DROME	5
211	207	8.60	8.6	23.29	13.42	13.42	sp P07909 ROA1.DROME	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 OS=Drosophila melanogaster GN=Hrb98DE PE=2 SV=1	DROME	5
212	208	8.55	8.55	15.71	6.602	4.656	sp Q9W1X7 MED23.DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 23 OS=Drosophila melanogaster GN=MED23 PE=1 SV=1	DROME	5
213	209	8.55	8.55	42.52	23.46	15.25	sp P41374 IF2A.DROME	Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 1 OS=Drosophila melanogaster GN=eIF-2alpha PE=2 SV=1	DROME	4
214	210	8.50	8.5	36.06	16.62	13.3	sp Q9VU65 POC1.DROME	POC1 centriolar protein homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Poc1 PE=2 SV=1	DROME	4
215	211	8.42	8.42	27.06	8.55	8.55	sp P18091 ACTN.DROME	Alpha-actinin, sarcomeric OS=Drosophila melanogaster GN=Actn PE=1 SV=2	DROME	6
216	212	8.38	8.38	36.96	34.78	29.35	sp P08645 RAS3.DROME	Ras-like protein 3 OS=Drosophila melanogaster GN=R PE=2 SV=2	DROME	4
217	213	8.27	8.27	56.03	25.89	14.06	sp P17133 RU17.DROME	U1 small nuclear ribonucleoprotein 70 kDa OS=Drosophila melanogaster GN=enRNP-U1-70K PE=1 SV=2	DROME	5
218	214	8.27	8.27	58.7	43.32	37.25	sp P29613 TPIS.DROME	Triosephosphate isomerase OS=Drosophila melanogaster GN=Tpi PE=1 SV=3	DROME	6
219	215	8.23	8.23	36.54	20.77	19.42	sp Q27237 TID.DROME	Protein tumorous imaginal discs, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=I2tid PE=1 SV=2	DROME	5
220	216	8.14	8.14	31.15	6.949	5.536	sp Q9V8R9 41.DROME	Protein 4.1 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=cora PE=1 SV=1	DROME	6
221	217	8.04	9.69	42.82	19.82	18.22	sp P48601 PRS4.DROME	26S protease regulatory subunit 4 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpt2 PE=1 SV=2	DROME	7
222	218	8.04	8.04	32.17	22.03	22.03	sp Q9W2N0 CAPZA.DROME	F-actin-capping protein subunit alpha OS=Drosophila melanogaster GN=cpa PE=2 SV=1	DROME	5
223	219	8.02	8.04	42.31	20.41	17.46	sp P26270 PSMD7.DROME	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 7 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpn8 PE=1 SV=6	DROME	4
224	220	8.02	8.02	59.06	52.76	52.76	sp Q9U3Z7 NH2L1.DROME	NHP2-like protein 1 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=hoip PE=2 SV=1	DROME	5
225	221	8.00	8	21.97	17.17	17.17	sp P55035 PSMD4.DROME	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 4 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpn10 PE=1 SV=2	DROME	4
226	222	8.00	8	41.22	27.76	27.76	sp P56538 IF6.DROME	Eukaryotic translation initiation factor 6 OS=Drosophila melanogaster GN=eIF6 PE=2 SV=3	DROME	5
227	223	8.00	8	67.02	54.26	54.26	sp Q9VLV5 RUXE.DROME	Probable small nuclear ribonucleoprotein E OS=Drosophila melanogaster GN=Sme PE=1 SV=1	DROME	4
228	224	7.98	7.98	33.33	16.67	16.67	sp Q9W3W8 RL17.DROME	60S ribosomal protein L17 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpl17 PE=1 SV=1	DROME	5
229	225	7.88	7.88	43.43	22.9	16.16	sp P21914 SDHB.DROME	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur subunit, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=SdhB PE=2 SV=2	DROME	4
230	226	7.87	7.87	32.83	22.73	20.2	sp Q9VG73 ILF2.DROME	Interleukin enhancer-binding factor 2 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=CG5641 PE=2 SV=1	DROME	5
231	227	7.85	7.85	72.58	41.94	36.29	sp Q27442 H2B.ANOGA	Histone H2B OS=Anopheles gambiae GN=AGAP012199 PE=2 SV=5	ANOGA	7
232	227	0.00	7.85	58.54	42.28	36.59	sp P02283 H2B.DROME	Histone H2B OS=Drosophila melanogaster GN=His2B PE=1 SV=2	DROME	7
233	228	7.84	7.85	65.67	38.81	38.81	sp P04359 RL32.DROME	60S ribosomal protein L32 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpl32 PE=1 SV=3	DROME	7
234	229	7.80	7.8	35.29	14	9.143	sp P20480 NCD.DROME	Protein claret segregational OS=Drosophila melanogaster GN=ncd PE=1 SV=1	DROME	4
235	230	7.75	7.75	65.83	29.17	29.17	sp P55828 RS20.DROME	40S ribosomal protein S20 OS=Drosophila melanogaster GN=Rps20 PE=1 SV=1	DROME	4
236	231	7.59	7.59	26.87	25	25	sp Q9VNA5 PSB4.DROME	Proteasome subunit beta type-4 OS=Drosophila melanogaster GN=Probeta7 PE=2 SV=1	DROME	5
237	232	7.42	7.42	25.36	15.31	15.31	sp P32392 ARP3.DROME	Actin-related protein 3 OS=Drosophila melanogaster GN=Arp3 PE=2 SV=3	DROME	4
238	233	7.41	7.41	66.13	22.18	19.35	sp P29327 RS6.DROME	40S ribosomal protein S6 OS=Drosophila melanogaster GN=RpS6 PE=1 SV=1	DROME	6
239	234	7.40	7.4	16.37	5.18	4.489	sp A1ZAB5 CLU.DROME	Protein clueless OS=Drosophila melanogaster GN=clu PE=1 SV=1	DROME	4
240	235	7.38	7.38	60.66	42.21	28.69	sp Q95083 PSA5.DROME	Proteasome subunit alpha type-5 OS=Drosophila melanogaster GN=Proalpha5 PE=2 SV=2	DROME	4
241	236	7.28	7.28	38.79	38.79	38.79	sp Q8T8R1 Y3800.DROME	CCHC-type zinc finger protein CG3800 OS=Drosophila melanogaster GN=CG3800 PE=1 SV=1	DROME	6
242	237	7.22	7.22	46.15	29.06	29.06	sp P48588 RS25.DROME	40S ribosomal protein S25 OS=Drosophila melanogaster GN=RpS25 PE=1 SV=3	DROME	6
243	238	7.19	7.19	38.17	12.37	9.677	sp P52029 G6PI.DROME	Glucose-6-phosphate isomerase OS=Drosophila melanogaster GN=Pgi PE=2 SV=2	DROME	4
244	239	7.11	7.11	25.33	9.436	6.974	sp P17210 KINH.DROME	Kinesin heavy chain OS=Drosophila melanogaster GN=Khc PE=1 SV=2	DROME	5
245	240	7.11	7.11	33.24	16.07	16.07	sp P42207 SEPT1.DROME	Septin-1 OS=Drosophila melanogaster GN=Sep1 PE=1 SV=1	DROME	4
246	241	7.10	7.11	64.52	54.84	54.84	sp P84051 H2A.DROME	Histone H2A OS=Drosophila melanogaster GN=His2A PE=1 SV=2	DROME	7
247	242	7.03	7.03	26.09	6.936	6.936	sp Q9VLM8 SYAC.DROME	Alanine--tRNA ligase, cytoplasmic OS=Drosophila melanogaster GN=Aats-ala PE=2 SV=1	DROME	5
248	243	7.01	7.01	60.29	31.86	21.08	sp Q17445 RL15.DROME	60S ribosomal protein L15 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpl15 PE=1 SV=1	DROME	4
249	244	6.87	6.87	72.58	46.77	34.68	sp Q9V597 RL31.DROME	60S ribosomal protein L31 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpl31 PE=1 SV=1	DROME	4
250	245	6.74	6.74	33.33	18.83	16.67	sp P22464 ANXB9.DROME	Annexin B9 OS=Drosophila melanogaster GN=AnxB9 PE=2 SV=2	DROME	5
251	246	6.69	6.69	20.79	5.156	4.311	sp Q9VUC6 Y2138.DROME	Formin-like protein CG32138 OS=Drosophila melanogaster GN=CG32138 PE=1 SV=3	DROME	4
252	247	6.68	6.68	45.58	22.57	22.57	sp Q27869 PIMT.DROME	Protein-L-isopartate(D-aspartate) O-methyltransferase OS=Drosophila melanogaster GN=Pcmt PE=1 SV=2	DROME	5
253	248	6.62	6.62	28.65	12.1	8.185	sp P54385 DHE3.DROME	Glutamate dehydrogenase, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=Gdh PE=1 SV=2	DROME	4
254	249	6.59	6.59	16.94	6.811	6.645	sp Q8T079 GLYR1.DROME	Putative oxidoreductase GLYR1 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=CG4747 PE=1 SV=1	DROME	4
255	250	6.51	6.51	29.48	11.89	8.878	sp Q07327 ROP.DROME	Protein ROP OS=Drosophila melanogaster GN=Rop PE=2 SV=2	DROME	3
256	251	6.45	6.45	26.09	7.635	4.348	sp Q9V9K7 SRRT.DROME	Serrate RNA effector molecule homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Ars2 PE=1 SV=2	DROME	4
257	252	6.33	6.33	48.84	26.16	26.16	sp Q9VGS2 TCTP.DROME	Translationally-controlled tumor protein homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Tctp PE=1 SV=1	DROME	5
258	253	6.17	6.17	19.29	6.633	5.408	sp Q9VFS5 PP4R3.DROME	Serine/threonine-protein phosphatase 4 regulatory subunit 3 OS=Drosophila melanogaster GN=Ppp PE=1 SV=4	DROME	3
259	254	6.12	6.12	32.03	21.57	21.57	sp Q9VQG4 COLT.DROME	Congested-like trachea protein OS=Drosophila melanogaster GN=colt PE=2 SV=1	DROME	4
260	255	6.09	6.09	43.89	26.67	26.67	sp P40945 ARF2.DROME	ADP-ribosylation factor 2 OS=Drosophila melanogaster GN=Arf102F PE=2 SV=2	DROME	4

Table 4 共免疫沈降-ショットガン質量分析により同定されたタンパクのリスト(続き)

固定タンパク質										
No	N	Unused	Total	%Cov	%Cov(50)	%Cov(95)	Accession	Name	Species	Peptides
261	256	6.08	6.08	23.57	11.96	8.036	sp Q9VCK0 E3D1.DROME	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit D-1 OS=Drosophila melanogaster GN=eIF-3p66 PE=1 SV=1	DROME	3
262	257	6.07	6.07	27.31	23.61	15.28	sp P43332 SNRPA.DROME	U1 small nuclear ribonucleoprotein A OS=Drosophila melanogaster GN=snf PE=1 SV=1	DROME	3
263	258	6.05	6.05	32.91	10.47	10.47	sp Q9V3J1 VATH.DROME	V-type proton ATPase subunit H OS=Drosophila melanogaster GN=VhaSFD PE=2 SV=2	DROME	3
264	259	6.03	6.03	19.25	5.258	5.258	sp Q9W3C1 U202.DROME	Polycomb protein (K1)G0020 OS=Drosophila melanogaster GN=(K1)G0020 PE=1 SV=2	DROME	3
265	260	6.01	6.01	55.14	30.84	30.84	sp Q9W141 ATPK.DROME	Putative ATP synthase subunit f, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=CG4692 PE=1 SV=1	DROME	3
266	261	6.00	6	48.39	35.48	35.48	sp Q9VU02 SMD1.DROME	Probable small nuclear ribonucleoprotein Sm D1 OS=Drosophila melanogaster GN=Smd1 PE=1 SV=1	DROME	3
267	262	6.00	6	16.5	12.62	12.62	sp P23696 PP2A.DROME	Serine/threonine-protein phosphatase PP2A OS=Drosophila melanogaster GN=mts PE=2 SV=1	DROME	3
268	263	5.97	5.97	47.78	29.06	17.73	sp P36241 RL19.DROME	60S ribosomal protein L19 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpl19 PE=1 SV=2	DROME	5
269	264	5.96	5.96	56.9	21.84	21.84	sp Q9VLJ9 RM51.DROME	39S ribosomal protein L51, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=mRpl51 PE=2 SV=2	DROME	3
270	265	5.89	5.89	21.36	7.097	4.755	sp P04146 COPIA.DROME	Copia protein OS=Drosophila melanogaster GN=GIP PE=1 SV=3	DROME	3
271	266	5.79	7.03	34.51	18.18	16.33	sp P40797 PNUT.DROME	Protein peanut OS=Drosophila melanogaster GN=pnut PE=1 SV=2	DROME	5
272	267	5.69	5.69	43.48	28.26	24.64	sp P48603 CAPZB.DROME	F-actin-capping protein subunit beta OS=Drosophila melanogaster GN=cpb PE=2 SV=1	DROME	5
273	268	5.65	5.65	15.9	7.081	4.845	sp Q96020 K110A.DROME	Kinesin-like protein Klp10A OS=Drosophila melanogaster GN=Klp10A PE=1 SV=1	DROME	3
274	269	5.64	5.64	47.23	26.81	20.43	sp P40304 PSB1.DROME	Proteasome subunit beta type-1 OS=Drosophila melanogaster GN=Probeta6 PE=2 SV=2	DROME	3
275	270	5.62	5.62	24.94	18.49	16.04	sp Q24319 OST48.DROME	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase 48 kDa subunit OS=Drosophila melanogaster GN=Ost48 PE=2 SV=2	DROME	4
276	271	5.56	5.56	30.83	10.14	8.75	sp Q9XYU0 MCM7.DROME	DNA replication licensing factor Mcm7 OS=Drosophila melanogaster GN=Mcm7 PE=1 SV=1	DROME	4
277	272	5.35	5.35	28.47	9.369	9.369	sp Q9VQX4 PNCB.DROME	Nicotinate phosphoribosyltransferase OS=Drosophila melanogaster GN=CG3714 PE=2 SV=2	DROME	3
278	273	5.34	5.34	31.73	24.36	19.55	sp P41375 IF2B.DROME	Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 2 OS=Drosophila melanogaster GN=eIF-2beta PE=1 SV=1	DROME	4
279	274	5.31	5.31	29.83	15.51	15.51	sp P54359 SEPT2.DROME	Septin-2 OS=Drosophila melanogaster GN=Sep2 PE=2 SV=2	DROME	4
280	275	5.30	5.3	18.19	6.389	6.389	sp Q9VR99 CATIN.DROME	Cactin OS=Drosophila melanogaster GN=cactin PE=1 SV=3	DROME	3
281	276	5.27	5.27	62.58	25.16	20	sp Q9VJY6 RL24.DROME	60S ribosomal protein L24 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpl24 PE=1 SV=1	DROME	3
282	277	5.22	5.22	11.81	4.059	4.059	sp Q8SWR8 ATX2.DROME	Ataxin-2 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Atx2 PE=1 SV=1	DROME	3
283	278	5.19	5.51	48.15	33.86	28.57	sp P08646 RAS1.DROME	Ras-like protein 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Ras85D PE=1 SV=2	DROME	4
284	279	5.13	5.13	15.48	3.347	3.347	sp Q9VAW5 LARP.DROME	La-related protein 1 OS=Drosophila melanogaster GN=larp PE=1 SV=5	DROME	4
285	280	5.09	5.09	14.52	1.954	1.334	sp Q9VLT5 POE.DROME	Protein purity of essence OS=Drosophila melanogaster GN=poe PE=1 SV=1	DROME	4
286	281	5.06	5.06	34.2	18.22	8.922	sp Q9W4X7 E13G1.DROME	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit G-1 OS=Drosophila melanogaster GN=eIF3-S4-1 PE=1 SV=1	DROME	3
287	282	5.01	5.01	23.68	23.68	23.68	sp Q27415 NLP.DROME	Nucleoplasmin-like protein OS=Drosophila melanogaster GN=Nlp PE=1 SV=1	DROME	3
288	283	4.89	4.89	19.25	3.288	3.288	sp P54362 AP3D.DROME	AP-3 complex subunit delta OS=Drosophila melanogaster GN=g PE=1 SV=4	DROME	3
289	284	4.87	4.87	19.62	1.595	0.9485	sp P37276 DYHC.DROME	Dynein heavy chain, cytoplasmic OS=Drosophila melanogaster GN=Dhc64C PE=2 SV=2	DROME	3
290	285	4.85	4.85	44.7	11.43	11.43	sp P41572 6PGD.DROME	6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating OS=Drosophila melanogaster GN=Pgd PE=2 SV=1	DROME	3
291	286	4.79	4.79	44.86	27.98	13.99	sp Q94516 AT5F1.DROME	ATP synthase subunit b, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=ATPsynb PE=2 SV=2	DROME	3
292	287	4.78	4.79	26.34	23.21	20.09	sp Q7KNF2 PABP2.DROME	Polyadenylate-binding protein 2 OS=Drosophila melanogaster GN=Pabp2 PE=1 SV=1	DROME	3
293	288	4.71	4.71	37.04	13.28	11.56	sp Q24509 STX5.DROME	Syntaxin-5 OS=Drosophila melanogaster GN=Syx5 PE=2 SV=2	DROME	3
294	289	4.68	4.68	59.65	31.58	31.58	sp P13008 RS26.DROME	40S ribosomal protein S26 OS=Drosophila melanogaster GN=RpS26 PE=1 SV=1	DROME	3
295	290	4.65	4.65	19.06	14.72	11.37	sp Q9VD26 ZFPL1.DROME	Zinc finger protein-like 1 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=CG5382 PE=1 SV=1	DROME	3
296	291	4.65	4.65	23.61	23.61	23.61	sp Q02427 RBP1.DROME	RNA-binding protein 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Rbp1 PE=2 SV=3	DROME	3
297	292	4.62	4.62	82.73	39.57	20.14	sp P80455 RS12.DROME	40S ribosomal protein S12 OS=Drosophila melanogaster GN=RpS12 PE=1 SV=2	DROME	2
298	293	4.59	4.59	31.82	16.19	7.102	sp Q94901 LARK.DROME	RNA-binding protein lark OS=Drosophila melanogaster GN=lark PE=1 SV=1	DROME	2
299	294	4.57	4.57	75.71	38.57	31.43	sp Q9WSN2 RL38.DROME	60S ribosomal protein L38 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpl38 PE=1 SV=1	DROME	3
300	295	4.37	4.37	40.28	11.14	5.45	sp Q9VNE2 PKRA.DROME	Protein krasavietz OS=Drosophila melanogaster GN=kra PE=1 SV=1	DROME	2
301	296	4.34	4.34	31.16	12.33	12.33	sp Q23983 SNAP.DROME	Alpha-soluble NSF attachment protein OS=Drosophila melanogaster GN=alphaSnap PE=1 SV=1	DROME	3
302	297	4.27	4.27	32.93	20.43	20.43	sp Q94522 SUCA.DROME	Succinyl-CoA ligase [ADP/GDP-forming] subunit alpha, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=Scalpa PE=2 SV=3	DROME	4
303	298	4.24	4.24	24.3	10.12	6.386	sp Q9VEC1 MED17.DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 17 OS=Drosophila melanogaster GN=MED17 PE=1 SV=1	DROME	3
304	299	4.24	4.24	35.97	20.5	16.91	sp Q9V4S8 CSN7.DROME	COP9 signalosome complex subunit 7 OS=Drosophila melanogaster GN=CSN7 PE=1 SV=2	DROME	3
305	300	4.20	4.2	19.04	7.214	7.214	sp P36872 2ABA.DROME	Protein phosphatase PP2A 55 kDa regulatory subunit OS=Drosophila melanogaster GN=tws PE=2 SV=1	DROME	3
306	301	4.18	4.18	43.75	43.75	42.19	sp Q9V5P6 NOP10.DROME	H/ACA ribonucleoprotein complex subunit 3 OS=Drosophila melanogaster GN=CG7637 PE=2 SV=1	DROME	2
307	302	4.15	4.15	14.07	6.126	6.126	sp Q9VSS2 SRP68.DROME	Signal recognition particle subunit SRP68 OS=Drosophila melanogaster GN=Srp68 PE=2 SV=1	DROME	3
308	303	4.15	4.15	15.95	8.354	5.57	sp Q45VV3 YAP1.DROME	Transcriptional coactivator yorkie OS=Drosophila melanogaster GN=yki PE=1 SV=2	DROME	2
309	304	4.09	4.09	70.33	18.18	18.18	sp Q24439 ATPO.DROME	ATP synthase subunit O, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=ATPsynO PE=2 SV=2	DROME	3
310	305	4.09	4.09	44.27	26.04	26.04	sp P48148 RHO1.DROME	Ras-like GTP-binding protein Rho1 OS=Drosophila melanogaster GN=Rho1 PE=1 SV=1	DROME	3
311	306	4.06	4.06	34.1	21.2	14.75	sp Q94518 NACA.DROME	Nascent polypeptide-associated complex subunit alpha OS=Drosophila melanogaster GN=Nacalpha PE=1 SV=2	DROME	2
312	307	4.06	4.06	31.58	18.86	15.79	sp P00408 COX2.DROME	Cytochrome c oxidase subunit 2 OS=Drosophila melanogaster GN=mtCoII PE=3 SV=1	DROME	2
313	308	4.05	4.05	36.75	36.75	30.77	sp Q9XZH6 VATG.DROME	V-type proton ATPase subunit G OS=Drosophila melanogaster GN=Vha13 PE=3 SV=1	DROME	2
314	309	4.01	4.01	20.18	3.68	3.68	sp P52034 PFKA.DROME	ATP-dependent 6-phosphofructokinase OS=Drosophila melanogaster GN=Pfk PE=2 SV=2	DROME	2
315	310	4.01	4.01	26.37	5.664	5.664	sp Q97477 INO1.DROME	Inositol-3-phosphate synthase OS=Drosophila melanogaster GN=Inos PE=1 SV=1	DROME	2
316	311	4.01	4.01	29.55	14.61	14.61	sp Q9V3H2 PSDE.DROME	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 14 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpn11 PE=1 SV=1	DROME	2
317	312	4.01	4.01	15.12	4.854	3.051	sp Q9W4X9 ZW10.DROME	Centromere/kinetochore protein zw10 OS=Drosophila melanogaster GN=Zw10 PE=1 SV=2	DROME	2
318	313	4.01	4.01	50	42.86	42.86	sp P08570 RLA1.DROME	60S acidic ribosomal protein P1 OS=Drosophila melanogaster GN=RplP1 PE=1 SV=2	DROME	2
319	314	4.00	16.11	71.99	51.81	46.99	sp P07486 G3P1.DROME	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Gapdh1 PE=2 SV=2	DROME	10
320	315	4.00	4	20.05	2.556	2.556	sp Q9VGK7 ELP1.DROME	Putative elongator complex protein 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Elp1 PE=1 SV=2	DROME	2
321	316	4.00	4	12.39	4.13	4.13	sp O01382 DRICE.DROME	Caspase OS=Drosophila melanogaster GN=Drice PE=1 SV=2	DROME	2
322	317	4.00	4	23.02	9.524	9.524	sp A1ZBT5 MED8.DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 8 OS=Drosophila melanogaster GN=MED8 PE=2 SV=1	DROME	2
323	318	4.00	4	13.19	9.787	9.787	sp P08182 CSK2B.DROME	Casein kinase II subunit beta OS=Drosophila melanogaster GN=CskIIbeta PE=2 SV=2	DROME	2
324	319	3.94	3.94	48.37	10.87	10.87	sp P32234 128UP.DROME	GTP-binding protein 128up OS=Drosophila melanogaster GN=128up PE=2 SV=2	DROME	3
325	320	3.90	3.9	30.81	13.51	6.161	sp Q7KL9V PSD11.DROME	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 11 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpn6 PE=1 SV=1	DROME	2

Table 4 共免疫沈降-ショットガン質量分析により同定されたタンパクのリスト(続き)

同定タンパク質										
No	N	Unused	Total	%Cov	%Cov(50)	%Cov(95)	Accession	Name	Species	Peptide s
326	321	3.87	3.87	41.28	12.31	8.462	sp P40796 LA_DROME	La protein homolog OS=Drosophila melanogaster GN=La PE=1 SV=2	DROME	2
327	322	3.83	3.83	58.94	12.58	12.58	sp O44437 SMD3_DROME	Small nuclear ribonucleoprotein Sm D3 OS=Drosophila melanogaster GN=Smd3 PE=1 SV=1	DROME	3
328	323	3.78	3.78	48.58	23.34	17.03	sp Q9VLN1 WDR82_DROME	WD repeat-containing protein 82 OS=Drosophila melanogaster GN=Wdr82 PE=1 SV=1	DROME	4
329	324	3.78	3.78	10.16	4.421	2.258	sp Q9TVM2 XPO1_DROME	Exportin-1 OS=Drosophila melanogaster GN=emb PE=1 SV=1	DROME	2
330	325	3.76	3.76	25.21	14.57	6.723	sp P54397 FKB39_DROME	39 kDa FK506-binding nuclear protein OS=Drosophila melanogaster GN=FK506-bp1 PE=1 SV=2	DROME	3
331	326	3.75	3.76	39.36	33.33	19.28	sp P22769 PSA71_DROME	Proteasome subunit alpha type-7-1 OS=Drosophila melanogaster GN=Prosalpha4 PE=1 SV=2	DROME	3
332	327	3.74	3.74	24.16	15.17	15.17	sp Q24251 ATP5H_DROME	ATP synthase subunit d mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=ATPsynD PE=2 SV=2	DROME	2
333	328	3.70	3.7	23.32	20.55	10.67	sp Q9V5C6 PSA3_DROME	Proteasome subunit alpha type-3 OS=Drosophila melanogaster GN=Prosalpha7 PE=1 SV=1	DROME	2
334	329	3.68	3.68	16.93	6.615	6.615	sp P18431 SGG_DROME	Protein kinase shaggy OS=Drosophila melanogaster GN=sgg PE=1 SV=3	DROME	2
335	330	3.66	3.66	11.62	2.556	1.704	sp Q9VF87 CYFIP_DROME	Cytoplasmic FMR1-interacting protein OS=Drosophila melanogaster GN=Sra-1 PE=1 SV=1	DROME	2
336	331	3.66	3.66	23.62	7.975	7.975	sp Q9VLQ1 ALG5_DROME	Dolichyl-phosphate beta-glucosyltransferase OS=Drosophila melanogaster GN=wol PE=1 SV=1	DROME	2
337	332	3.65	3.65	23.28	3.79	2.862	sp P24785 MLE_DROME	Dosage compensation regulator OS=Drosophila melanogaster GN=mle PE=2 SV=2	DROME	2
338	333	3.63	3.63	18.43	6.143	4	sp Q9SJR9 EBI_DROME	F-box-like/WD repeat-containing protein ebi OS=Drosophila melanogaster GN=ebi PE=1 SV=2	DROME	2
339	334	3.63	3.63	57.59	16.23	16.23	sp Q17031 CDC42_ANOGA	Cdc42 homolog OS=Anopheles gambiae GN=Cdc42 PE=2 SV=2	ANOGA	2
340	334	0.00	3.63	50.79	16.23	16.23	sp P40793 CDC42_DROME	Cdc42 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Cdc42 PE=1 SV=1	DROME	2
341	335	3.62	3.62	29.2	9.44	6.785	sp P06754 TPM1_DROME	Tropomyosin-1, isoforms 9A/A/B OS=Drosophila melanogaster GN=Tm1 PE=2 SV=2	DROME	2
342	335	0.00	3.62	15.83	4.44	4.44	sp P49455 TPM4_DROME	Tropomyosin-1, isoforms 33/34 OS=Drosophila melanogaster GN=Tm1 PE=2 SV=2	DROME	2
343	336	3.59	3.59	23.86	9.429	5.286	sp Q04047 NONA_DROME	Protein no-on-transient A OS=Drosophila melanogaster GN=nonA PE=1 SV=2	DROME	2
344	337	3.52	3.52	13.37	9.158	6.683	sp Q9VY33 UBA5_DROME	Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 5 OS=Drosophila melanogaster GN=CG1749 PE=2 SV=1	DROME	2
345	338	3.50	3.65	9.492	4.746	2.508	sp Q9VP05 MED1_DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 1 OS=Drosophila melanogaster GN=MED1 PE=1 SV=2	DROME	2
346	339	3.49	7.78	33.08	15.04	12.53	sp Q9VHS8 IF4A3_DROME	Eukaryotic initiation factor 4A-III OS=Drosophila melanogaster GN=eIF4AIII PE=1 SV=1	DROME	4
347	340	3.42	3.42	25.62	18.13	11.87	sp Q9V3U2 NHP2_DROME	H/ACA ribonucleoprotein complex subunit 2-like protein OS=Drosophila melanogaster GN=NHP2 PE=1 SV=1	DROME	2
348	341	3.35	3.35	16.97	2.746	2.746	sp Q8INM3 SLE_DROME	Protein slender lobes OS=Drosophila melanogaster GN=sle PE=1 SV=1	DROME	2
349	341	0.00	3.26	17.95	5.786	5.786	sp Q9VGZ8 SLEL_DROME	Slender lobes-like protein OS=Drosophila melanogaster GN=CG12592 PE=1 SV=3	DROME	2
350	342	3.32	3.32	28.74	8.084	5.689	sp Q9VUR3 AIMP2_DROME	Probable aminoacyl tRNA synthase complex-interacting multifunctional protein 2 OS=Drosophila melanogaster GN=CG12304 PE=3 SV=1	DROME	2
351	343	3.32	3.32	50	50	48.21	sp Q9VH69 RS29_DROME	40S ribosomal protein S29 OS=Drosophila melanogaster GN=Rps29 PE=1 SV=1	DROME	3
352	344	3.28	3.28	21.03	6.154	3.282	sp Q9XZU1 XPO2_DROME	Exportin-2 OS=Drosophila melanogaster GN=Cas PE=2 SV=2	DROME	2
353	345	3.24	6.48	54.61	48.94	41.84	sp P08985 H2AV_DROME	Histone H2A.v OS=Drosophila melanogaster GN=His2Av PE=1 SV=2	DROME	4
354	346	3.17	3.17	19.12	3.458	2.786	sp P13607 ATNA_DROME	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha OS=Drosophila melanogaster GN=Atalpha PE=1 SV=3	DROME	2
355	347	3.17	3.17	27.8	12.68	12.68	sp Q9XYN7 PSB3_DROME	Proteasome subunit beta type-3 OS=Drosophila melanogaster GN=Probeta3 PE=1 SV=1	DROME	3
356	348	3.13	3.13	26.32	17.11	17.11	sp P18489 SYB_DROME	Synaptobrevin OS=Drosophila melanogaster GN=Syb PE=2 SV=3	DROME	2
357	349	3.01	3.01	30.81	7.843	7.843	sp Q9V6U9 MECR_DROME	Probable trans-2-enoyl-CoA reductase, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=CG16935 PE=3 SV=2	DROME	2
358	350	2.99	2.99	13.39	2.719	2.719	sp Q9VSF2 MED24_DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 24 OS=Drosophila melanogaster GN=MED24 PE=1 SV=2	DROME	2
359	351	2.98	2.99	23.68	3.971	3.971	sp Q9VD51 DDX18_DROME	Probable ATP-dependent RNA helicase pitchoune OS=Drosophila melanogaster GN=pit PE=2 SV=2	DROME	2
360	352	2.93	2.93	11.72	1.005	1.005	sp P51592 HYD_DROME	E3 ubiquitin-protein ligase hyd OS=Drosophila melanogaster GN=hyd PE=1 SV=3	DROME	2
361	353	2.91	2.91	31.74	10.38	2.395	sp Q05652 KPEL_DROME	Serine/threonine-protein kinase pelle OS=Drosophila melanogaster GN=pil PE=1 SV=1	DROME	1
362	354	2.83	2.83	36.87	19.82	10.6	sp Q00637 SODM_DROME	Superoxide dismutase [Mn], mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=SoD2 PE=2 SV=3	DROME	2
363	355	2.82	2.82	20.97	17.34	17.34	sp Q9V3Y2 DRE2_DROME	Anamorsin homolog OS=Drosophila melanogaster GN=CIAPIN1 PE=2 SV=1	DROME	2
364	356	2.79	2.79	25.31	3.423	3.423	sp Q9W278 MED16_DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 16 OS=Drosophila melanogaster GN=MED16 PE=1 SV=2	DROME	2
365	357	2.78	2.78	27.93	8.245	8.245	sp P45889 ACTZ_DROME	Actin-related protein 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Arp1 PE=2 SV=2	DROME	2
366	358	2.78	2.78	39.65	10.13	10.13	sp P35122 UCHL_DROME	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase OS=Drosophila melanogaster GN=Uch PE=2 SV=2	DROME	2
367	359	2.77	2.77	14.97	8.599	8.599	sp Q9W3C7 PPT1_DROME	Palmitoyl-protein thioesterase 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Ppt1 PE=1 SV=2	DROME	2
368	360	2.76	2.76	20.09	10.26	10.26	sp P40301 PSA2_DROME	Proteasome subunit alpha type-2 OS=Drosophila melanogaster GN=Prosalpha2 PE=1 SV=1	DROME	2
369	361	2.71	2.71	13.32	2.069	1.564	sp Q97159 CHDM_DROME	Chromodomain-helicase-DNA-binding protein Mi-2 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Mi-2 PE=1 SV=2	DROME	2
370	362	2.69	2.69	41.29	11.74	4.924	sp P18053 PSA4_DROME	Proteasome subunit alpha type-4 OS=Drosophila melanogaster GN=Prosalpha3 PE=1 SV=2	DROME	1
371	363	2.67	2.67	52.13	14.54	9.929	sp Q94920 VDAC_DROME	Voltage-dependent anion-selective channel OS=Drosophila melanogaster GN=porin PE=1 SV=3	DROME	2
372	364	2.57	2.57	21.26	12.21	5.684	sp P23257 TBG1_DROME	Tubulin gamma-1 chain OS=Drosophila melanogaster GN=gammaTub23C PE=2 SV=2	DROME	1
373	365	2.55	2.55	18.36	7.377	4.754	sp Q9U6Y9 ANM5_DROME	Protein arginine N-methyltransferase 5 OS=Drosophila melanogaster GN=csul PE=1 SV=2	DROME	2
374	366	2.53	2.53	54.41	38.24	30.15	sp P02299 H3_DROME	Histone H3 OS=Drosophila melanogaster GN=His3 PE=1 SV=4	DROME	2
375	367	2.49	2.49	31.25	12.76	3.906	sp Q9V9S8 HEMH_DROME	Ferrochelatase, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=FeCh PE=2 SV=1	DROME	1
376	368	2.43	2.43	27.34	7.156	7.156	sp Q9V7Y2 SGPL_DROME	Sphingosine-1-phosphate lyase OS=Drosophila melanogaster GN=Sply PE=2 SV=1	DROME	2
377	369	2.42	2.42	31.02	14.81	9.259	sp Q9VRL2 GOSR2_DROME	Probable Golgi SNAP receptor complex member 2 OS=Drosophila melanogaster GN=Membrin PE=2 SV=1	DROME	1
378	370	2.40	2.4	35.81	8.651	2.941	sp P46150 MOEH_DROME	Moesin/ezrin/radixin homolog 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Moe PE=1 SV=2	DROME	1
379	370	0.02	2.16	24.44	4.475	2.926	sp Q7PS12 MOEH_ANOGA	Moesin/ezrin/radixin homolog 1 OS=Anopheles gambiae GN=Moe PE=3 SV=5	ANOGA	1
380	371	2.40	2.4	9.541	3.14	3.14	sp Q11002 CANA_DROME	Calpain-A OS=Drosophila melanogaster GN=CalpA PE=1 SV=2	DROME	2
381	372	2.37	2.37	19.15	4.661	3.051	sp Q9VY33 RENT1_DROME	Regulator of nonsense transcripts 1 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Ulpf1 PE=1 SV=2	DROME	2
382	373	2.33	66.67	79.41	65.21	65.21	sp Q9VG58 HSP74_DROME	Major heat shock 70 kDa protein Bbb OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp70Bbb PE=3 SV=2	DROME	50
383	373	0.00	66.67	79.41	65.21	65.21	sp Q9BIS2 HSP73_DROME	Major heat shock 70 kDa protein Bb OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp70Bb PE=2 SV=2	DROME	50
384	373	0.00	66.67	79.41	65.21	65.21	sp Q9BIR7 HSP75_DROME	Major heat shock 70 kDa protein Bc OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp70Bc PE=2 SV=2	DROME	50
385	373	0.00	66.67	79.41	65.21	65.21	sp Q8INI8 HSP72_DROME	Major heat shock 70 kDa protein Ba OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp70Ba PE=2 SV=2	DROME	50
386	374	2.28	2.28	51.96	8.157	5.136	sp P53034 RFC2_DROME	Replication factor C subunit 2 OS=Drosophila melanogaster GN=Rfc4 PE=2 SV=1	DROME	1
387	375	2.27	2.39	12.76	2.72	0.9715	sp Q9W2F2 DCAF1_DROME	Protein mahjong OS=Drosophila melanogaster GN=mahj PE=1 SV=2	DROME	1
388	376	2.26	2.26	33.7	2.77	1.847	sp Q8IRG6 SPT16_DROME	FACT complex subunit spt16 OS=Drosophila melanogaster GN=dre4 PE=1 SV=2	DROME	2
389	377	2.24	2.26	18.25	9.127	9.127	sp P91641 MED20_DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 20 OS=Drosophila melanogaster GN=MED20 PE=1 SV=2	DROME	2
390	378	2.21	2.21	15.88	9.118	5.588	sp P26308 GBB1_DROME	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-1 OS=Drosophila melanogaster GN=Gbeta13F PE=1 SV=1	DROME	1

Table 4 共免疫沈降-ショットガン質量分析により同定されたタンパクのリスト(続き)

同定タンパク質										
No	N	Unused	Total	%Cov	%Cov(50)	%Cov(95)	Accession	Name	Species	Peptide s
391	379	2.18	2.18	16.74	1.417	0.7083	splQ9WOP8 MED14_DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 14 OS=Drosophila melanogaster GN=MED14 PE=1 SV=4	DROME	1
392	380	2.17	2.17	23.71	4.957	2.586	splQ9W401 CISY_DROME	Probable citrate synthase, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=kdn PE=2 SV=1	DROME	1
393	381	2.16	2.16	37.98	10.58	5.288	splO18334 RAB6_DROME	Ras-related protein Rab6 OS=Drosophila melanogaster GN=Rab6 PE=1 SV=1	DROME	1
394	381	0.00	2	10.31	2.835	2.835	splQ9VP48 RAB26_DROME	Ras-related protein Rab-26 OS=Drosophila melanogaster GN=Rab26 PE=2 SV=2	DROME	1
395	381	0.00	2	25	5	5	splP25228 RAB3_DROME	Ras-related protein Rab-3 OS=Drosophila melanogaster GN=Rab3 PE=1 SV=1	DROME	1
396	382	2.15	2.15	24.66	2.442	2.442	splQ9XYU1 MCM3_DROME	DNA replication licensing factor Mcm3 OS=Drosophila melanogaster GN=Mcm3 PE=1 SV=1	DROME	2
397	383	2.15	2.15	23.97	4.795	4.795	splQ9VXF1 PP2B3_DROME	Serine/threonine-protein phosphatase 2B catalytic subunit 3 OS=Drosophila melanogaster GN=CanA-14F PE=1 SV=4	DROME	2
398	383	0.00	2.15	15.09	4.912	4.912	splQ27889 PP2B2_DROME	Serine/threonine-protein phosphatase 2B catalytic subunit 2 OS=Drosophila melanogaster GN=Pp2B-14D PE=1 SV=2	DROME	2
399	384	2.14	2.14	18.91	6.303	4.412	splO02373 UGDH_DROME	UDP-glucose 6-dehydrogenase OS=Drosophila melanogaster GN=sgl PE=1 SV=1	DROME	1
400	385	2.13	2.13	64.47	14.47	13.16	splQ24154 RL29_DROME	60S ribosomal protein L29 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpl29 PE=1 SV=1	DROME	1
401	386	2.13	2.13	85.85	34.91	26.42	splP52656 T2AG_DROME	Transcription initiation factor IIA subunit 2 OS=Drosophila melanogaster GN=TFIIA-S PE=1 SV=1	DROME	1
402	387	2.11	2.11	31.55	9.709	5.34	splQ8SXy6 TMEDA_DROME	Transmembrane emp24 domain-containing protein bai OS=Drosophila melanogaster GN=bai PE=2 SV=1	DROME	1
403	388	2.09	2.09	13.25	3.731	2.612	splQ9Y091 FL2D_DROME	Pre-mRNA-splicing regulator female-lethal(2)D OS=Drosophila melanogaster GN=fl(2)d PE=1 SV=2	DROME	1
404	389	2.08	2.08	11.64	4.795	3.562	splP16371 GROU_DROME	Protein groucho OS=Drosophila melanogaster GN=gro PE=1 SV=3	DROME	1
405	390	2.07	2.07	8.099	0.468	0.468	splP55824 FAF_DROME	Probable ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase FAF OS=Drosophila melanogaster GN=faf PE=1 SV=2	DROME	1
406	391	2.07	2.07	17.48	1.799	1.799	splQ9Y105 SYQ_DROME	Probable glutamine-tRNA ligase OS=Drosophila melanogaster GN=Aats-ghl PE=2 SV=1	DROME	1
407	392	2.07	2.07	66.15	32.31	18.46	splQ9W334 RS28_DROME	40S ribosomal protein S28 OS=Drosophila melanogaster GN=RpS28b PE=1 SV=2	DROME	1
408	393	2.06	2.06	8.455	0.9878	0.5927	splQ9VW47 MED12_DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 12 OS=Drosophila melanogaster GN=kto PE=1 SV=2	DROME	1
409	394	2.06	2.06	18.98	2.007	1.186	splQ24478 CP190_DROME	Centrosome-associated zinc finger protein CP190 OS=Drosophila melanogaster GN=Cp190 PE=1 SV=2	DROME	1
410	395	2.06	2.06	25.05	4.854	2.33	splQ9VYQ2 BAP60_DROME	Brahma-associated protein of 60 kDa OS=Drosophila melanogaster GN=Bap60 PE=1 SV=1	DROME	1
411	396	2.05	2.05	36.67	7.778	4.815	splO18405 SURF4_DROME	Surfeit locus protein 4 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Surf4 PE=2 SV=1	DROME	1
412	397	2.04	2.04	21.36	3.495	1.942	splQ9VCW1 CP6D4_DROME	Probable cytochrome P450 6d4 OS=Drosophila melanogaster GN=Cyp6d4 PE=2 SV=1	DROME	1
413	397	0.00	2	13.19	1.969	1.969	splQ9VFP1 CP6D5_DROME	Probable cytochrome P450 6d5 OS=Drosophila melanogaster GN=Cyp6d5 PE=2 SV=1	DROME	1
414	398	2.04	2.04	35.21	5.634	5.634	splP48604 GRPE_DROME	GrpE protein homolog, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=Roe1 PE=2 SV=2	DROME	1
415	399	2.04	2.04	17.45	13.68	8.962	splO76767 ERD2_DROME	ER lumen protein-retaining receptor OS=Drosophila melanogaster GN=KdeIR PE=2 SV=1	DROME	1
416	400	2.03	2.03	17.24	1.744	1.274	splQ9NBD7 CLASP_DROME	CLIP-associating protein OS=Drosophila melanogaster GN=chb PE=1 SV=1	DROME	1
417	401	2.03	2.03	18.75	2.155	1.197	splQ01989 MYS9_DROME	Myosin heavy chain 95F OS=Drosophila melanogaster GN=jar PE=2 SV=4	DROME	1
418	402	2.03	2.03	34.07	12.64	12.64	splP12426 APT_DROME	Adenine phosphoribosyltransferase OS=Drosophila melanogaster GN=Apt PE=2 SV=3	DROME	1
419	403	2.03	2.03	9.434	2.965	2.965	splQ95029 CATL_DROME	Cathepsin L OS=Drosophila melanogaster GN=Cpl PE=2 SV=2	DROME	1
420	404	2.02	2.02	8.811	1.652	1.652	splQ9VM71 XRN2_DROME	5'-3' exoribonuclease 2 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Rat1 PE=1 SV=2	DROME	1
421	405	2.02	2.02	21.38	6.884	6.884	splQ9V447 KRH2_DROME	Kruppel homolog 2 OS=Drosophila melanogaster GN=Kr-h2 PE=1 SV=1	DROME	1
422	406	2.02	2.02	25.24	7.143	7.143	splQ9V359 VPS28_DROME	Vacuolar protein sorting-associated protein 28 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Vps28 PE=1 SV=1	DROME	1
423	407	2.01	4.01	20.52	9.772	9.772	splO76932 PP4C_DROME	Serine/threonine-protein phosphatase 4 catalytic subunit OS=Drosophila melanogaster GN=Pp4-19C PE=2 SV=1	DROME	2
424	408	2.01	3.08	39.56	11.54	11.54	splP61209 ARF1_DROME	ADP-ribosylation factor 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Arf79F PE=2 SV=2	DROME	2
425	409	2.01	2.01	8.102	0.6273	0.6273	splQ9VXG1 HANG_DROME	Zinc finger protein hangover OS=Drosophila melanogaster GN=hng PE=1 SV=3	DROME	1
426	410	2.01	2.01	24.07	5.037	2.052	splQ9V431 API5_DROME	Apoptosis inhibitor 5 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Aac11 PE=2 SV=1	DROME	1
427	411	2.01	2.01	26.32	3.509	3.509	splP20477 QLNA1_DROME	Glutamine synthetase 1, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=Gsl1 PE=2 SV=3	DROME	1
428	412	2.01	2.01	9.458	1.615	1.615	splQ9VQ89 MIO_DROME	WD repeat-containing protein mio OS=Drosophila melanogaster GN=mio PE=2 SV=2	DROME	1
429	413	2.01	2.01	14.71	2.422	2.422	splQ24134 NELFD_DROME	Negative elongation factor D OS=Drosophila melanogaster GN=TH1 PE=1 SV=2	DROME	1
430	414	2.01	2.01	72.83	29.35	19.57	splQ9VMU4 RL37A_DROME	60S ribosomal protein L37a OS=Drosophila melanogaster GN=Rpl37A PE=1 SV=3	DROME	1
431	415	2.01	2.01	29.57	7.527	7.527	splQ9VHV5 ARL8_DROME	ADP-ribosylation factor-like protein 8 OS=Drosophila melanogaster GN=Gie PE=1 SV=1	DROME	1
432	416	2.01	2.01	40.79	17.11	17.11	splQ9VXE0 RUXG_DROME	Probable small nuclear ribonucleoprotein G OS=Drosophila melanogaster GN=SmG PE=1 SV=1	DROME	1
433	417	2.00	2.01	23.69	2.564	1.436	splQ86B47 Y8611_DROME	Probable ATP-dependent RNA helicase CG8611 OS=Drosophila melanogaster GN=CG8611 PE=1 SV=1	DROME	1
434	418	2.00	2	34.13	3.024	3.024	splQ9VB74 U396_DROME	UPF0396 protein CG6066 OS=Drosophila melanogaster GN=CG6066 PE=1 SV=1	DROME	1
435	419	2.00	2	13.5	1.144	1.144	splQ9GGN5 ATRX_DROME	Transcriptional regulator ATRX homolog OS=Drosophila melanogaster GN=XNP PE=1 SV=2	DROME	1
436	420	2.00	2	17.74	1.664	1.664	splQ9VC057 ATLAS_DROME	Atlastin OS=Drosophila melanogaster GN=atl PE=1 SV=1	DROME	1
437	421	2.00	2	11.66	1.143	1.143	splQ9B651 TOP3B_DROME	DNA topoisomerase 3-beta OS=Drosophila melanogaster GN=Top3beta PE=2 SV=2	DROME	1
438	422	2.00	2	22.84	3.448	3.448	splQ9VXK6 IF5_DROME	Eukaryotic translation initiation factor 5 OS=Drosophila melanogaster GN=eIF5 PE=1 SV=1	DROME	1
439	423	2.00	2	21.77	5.782	4.422	splQ9VQ93 GOLP3_DROME	Golgi phosphoprotein 3 homolog sauron OS=Drosophila melanogaster GN=sau PE=1 SV=1	DROME	1
440	424	2.00	2	13.25	2.41	2.41	splQ9W1H4 DNL1_DROME	DNA ligase 1 OS=Drosophila melanogaster GN=DNA-lig1 PE=1 SV=2	DROME	1
441	425	2.00	2	16.24	4.06	4.06	splQ9VI75 PICAL_DROME	Phosphatidylinositol-binding clathrin assembly protein LAP OS=Drosophila melanogaster GN=lap PE=1 SV=3	DROME	1
442	426	2.00	2	35.48	12.9	12.9	splQ9VXX8 RL371_DROME	Probable 60S ribosomal protein L37-A OS=Drosophila melanogaster GN=Rpl37a PE=1 SV=1	DROME	1
443	427	2.00	2	21.58	4.863	4.863	splQ9VKN7 AURKB_DROME	Aurora kinase B OS=Drosophila melanogaster GN=ial PE=1 SV=1	DROME	1
444	428	2.00	2	51.33	11.5	11.5	splP05389 RLA2_DROME	60S acidic ribosomal protein P2 OS=Drosophila melanogaster GN=RplP2 PE=1 SV=1	DROME	1
445	429	2.00	2	4.541	1.622	1.622	splQ9VT65 CANB_DROME	Calpain-B OS=Drosophila melanogaster GN=CalpB PE=1 SV=2	DROME	1
446	430	2.00	2	5.797	2.536	2.536	splQ9VQZ6 ELP3_DROME	Probable elongator complex protein 3 OS=Drosophila melanogaster GN=Elp3 PE=2 SV=1	DROME	1
447	431	2.00	2	21.54	5.145	5.145	splQ9VJ9 NUBP1_DROME	Cytosolic Fe-S cluster assembly factor NUBP1 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=CG17904 PE=2 SV=1	DROME	1
448	432	2.00	2	13.24	7.353	7.353	splQ8IH24 MED31_DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 31 OS=Drosophila melanogaster GN=MED31 PE=1 SV=2	DROME	1
449	433	2.00	2	8.413	3.846	3.846	splQ24562 U2AF2_DROME	Splicing factor U2AF 50 kDa subunit OS=Drosophila melanogaster GN=U2af50 PE=1 SV=1	DROME	1
450	434	2.00	2	31.46	12.36	12.36	splQ96860 DYL2_DROME	Dynein light chain 2, cytoplasmic OS=Drosophila melanogaster GN=Cdc2 PE=3 SV=1	DROME	1
451	434	0.00	2	12.36	12.36	12.36	splQ24117 DYL1_DROME	Dynein light chain 1, cytoplasmic OS=Drosophila melanogaster GN=ctp PE=1 SV=1	DROME	1
452	435	2.00	2	28.57	9.774	9.774	splQ9VAM6 CISD2_DROME	CDGSH iron-sulfur domain-containing protein 2 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Cisd2 PE=2 SV=1	DROME	1
453	436	2.00	2	15.83	9.266	9.266	splP48598 IF4E_DROME	Eukaryotic translation initiation factor 4E OS=Drosophila melanogaster GN=eIF-4E PE=1 SV=1	DROME	1
454	437	2.00	2	18.95	8.497	8.497	splO76206 RFX_DROME	Putative riboflavin kinase OS=Drosophila melanogaster GN=anon-84Ea PE=2 SV=1	DROME	1
455	438	2.00	2	16.67	16.67	16.67	splQ9VLU0 BAF_DROME	Barrier-to-autointegration factor OS=Drosophila melanogaster GN=batf PE=3 SV=1	DROME	1

Table 4 共免疫沈降-ショットガン質量分析により同定されたタンパクのリスト(続き)

同定タンパク質											
No	N	Unused	Total	%Cov	%Cov(50)	%Cov(95)	Accession	Name	Species	Peptides	
456	439	2.00	2	8.621	8.621	8.621	sp Q7JXV9 VPS25_DROME	Vacuolar protein-sorting-associated protein 25 OS=Drosophila melanogaster GN=Vps25 PE=1 SV=1	DROME	1	
457	440	1.96	2	40	2.857	2.857	sp Q9VLD6 BOREA_DROME	Borealin OS=Drosophila melanogaster GN=borr PE=1 SV=1	DROME	1	
458	441	1.96	1.96	21.86	2.572	1.484	sp Q23978 MY31D_DROME	Myosin-1A OS=Drosophila melanogaster GN=Myo31DF PE=2 SV=1	DROME	1	
459	442	1.93	1.93	12.68	1.84	1.84	sp Q9VPH8 RBBP5_DROME	Retinoblastoma-binding protein 5 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Rbbp5 PE=1 SV=2	DROME	1	
460	443	1.92	1.92	13.44	1.012	1.012	sp Q9VK45 TOR_DROME	Target of rapamycin OS=Drosophila melanogaster GN=Tor PE=1 SV=1	DROME	2	
461	444	1.91	1.91	38.38	12.79	8.418	sp P23572 CDK1_DROME	Cyclin-dependent kinase 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Cdk1 PE=1 SV=1	DROME	2	
462	445	1.86	1.86	25.47	1.527	0.8328	sp Q9V6K1 TPP2_DROME	Tripeptidyl-peptidase 2 OS=Drosophila melanogaster GN=Tppl PE=1 SV=2	DROME	1	
463	446	1.85	1.85	55.48	16.44	9.589	sp P54622 SSBP_DROME	Single-stranded DNA-binding protein, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=mtSSB PE=1 SV=2	DROME	1	
464	447	1.83	1.83	17.05	5.991	5.991	sp Q9VYR0 LS12A_DROME	Protein LSM12 homolog A OS=Drosophila melanogaster GN=CG15735 PE=2 SV=2	DROME	1	
465	448	1.82	1.82	26.79	6.901	5.548	sp P91928 MIC60_DROME	MICOS complex subunit Mic60 OS=Drosophila melanogaster GN=Mitofilin PE=1 SV=4	DROME	2	
466	449	1.80	1.8	31.71	3.187	1.214	sp Q9W252 RAD50_DROME	DNA repair protein RAD50 OS=Drosophila melanogaster GN=rad50 PE=2 SV=4	DROME	1	
467	450	1.80	1.8	24.24	3.157	1.24	sp P49735 MCM2_DROME	DNA replication licensing factor Mcm2 OS=Drosophila melanogaster GN=Mcm2 PE=1 SV=1	DROME	1	
468	451	1.76	1.76	21.06	4.579	2.381	sp Q27601 PUR1_DROME	Amidophosphoribosyltransferase OS=Drosophila melanogaster GN=Prat PE=1 SV=2	DROME	1	
469	452	1.76	1.76	25.38	13.08	5	sp P17917 PCNA_DROME	Proliferating cell nuclear antigen OS=Drosophila melanogaster GN=PCNA PE=1 SV=2	DROME	1	
470	453	1.74	1.74	23.76	11.6	11.6	sp Q9VSF3 UBC12_DROME	Nedd8-conjugating enzyme Ubc12 OS=Drosophila melanogaster GN=Ubc12 PE=1 SV=1	DROME	2	
471	454	1.72	1.72	27.76	2.508	2.508	sp Q9VXJ0 DHB4_DROME	Peroxisomal multifunctional enzyme type 2 OS=Drosophila melanogaster GN=Mfe2 PE=1 SV=1	DROME	1	
472	455	1.68	1.68	27.86	6.965	6.965	sp P48555 RALA_DROME	Ras-related protein Ral-a OS=Drosophila melanogaster GN=Rala PE=2 SV=2	DROME	1	
473	456	1.67	1.67	23.76	6.601	4.125	sp P49847 TAF6_DROME	Transcription initiation factor TFIID subunit 6 OS=Drosophila melanogaster GN=Taf6 PE=1 SV=2	DROME	2	
474	457	1.66	1.66	15.33	3.039	1.519	sp Q9VS46 RINT1_DROME	RINT1-like protein OS=Drosophila melanogaster GN=CG8605 PE=2 SV=2	DROME	1	
475	458	1.62	1.62	20.24	6.548	6.548	sp Q9V492 MPV17_DROME	Mpv17-like protein OS=Drosophila melanogaster GN=CG11077 PE=2 SV=1	DROME	1	
476	459	1.61	1.61	39.72	7.801	7.801	sp Q9VF08 TIM16_DROME	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim16 OS=Drosophila melanogaster GN=blp PE=2 SV=1	DROME	1	
477	460	1.58	1.58	7.9	5.198	3.015	sp Q4Z8K6 RBP9X_DROME	Ran-binding proteins 9/10 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=RanBPM PE=1 SV=1	DROME	2	
478	461	1.45	1.45	15.27	3.524	2.349	sp Q04499 PROD_DROME	Proline dehydrogenase 1, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=slgA PE=1 SV=2	DROME	1	
479	462	1.44	1.44	19.02	3.528	1.994	sp Q9V411 NOG1_DROME	Nucleolar GTP-binding protein 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Non1 PE=2 SV=1	DROME	1	
480	463	1.44	1.44	17.88	3.724	3.724	sp Q07152 IMDH_DROME	Inosine-5'-monophosphate dehydrogenase OS=Drosophila melanogaster GN=ras PE=1 SV=1	DROME	1	
481	464	1.43	1.44	13.85	6.081	2.196	sp Q9W016 SAC1_DROME	Phosphatidylinositol phosphatase SAC1 OS=Drosophila melanogaster GN=Sac1 PE=2 SV=1	DROME	1	
482	465	1.41	1.41	13.88	0.9912	0.9912	sp P49657 MNB_DROME	Serine/threonine-protein kinase minibrain OS=Drosophila melanogaster GN=mbb PE=2 SV=2	DROME	1	
483	466	1.41	1.41	23.47	3.971	3.971	sp Q961C9 TNG11_DROME	Transport and Golgi organization protein 11 OS=Drosophila melanogaster GN=Tango11 PE=1 SV=1	DROME	1	
484	467	1.39	1.39	20.19	2.628	1.521	sp Q05344 SSRP1_DROME	FACT complex subunit Ssrp1 OS=Drosophila melanogaster GN=Ssrp PE=1 SV=2	DROME	1	
485	468	1.37	1.37	31.25	4.762	4.762	sp Q7JWD3 ASNA_DROME	ATPase ASNA1 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=CG1598 PE=2 SV=1	DROME	1	
486	469	1.36	1.37	10.81	10.81	10.81	sp Q94524 DYLT_DROME	Dynein light chain Tctex-type OS=Drosophila melanogaster GN=Dlc90F PE=1 SV=1	DROME	1	
487	470	1.30	1.3	37.97	2.83	2.83	sp P20240 OTE_DROME	Otefin OS=Drosophila melanogaster GN=Ote PE=1 SV=2	DROME	1	
488	471	1.23	1.23	24.91	11.95	3.072	sp Q9VNG0 MED27_DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 27 OS=Drosophila melanogaster GN=MED27 PE=1 SV=1	DROME	1	
489	472	1.22	1.22	14.49	0.609	0.609	sp P91875 RPA1_DROME	DNA-directed RNA polymerase I subunit RPA1 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpl1 PE=1 SV=2	DROME	1	
490	473	1.19	1.19	38.73	6.349	6.349	sp P29052 TF2B_DROME	Transcription initiation factor IIB OS=Drosophila melanogaster GN=TFIIB PE=2 SV=1	DROME	1	
491	474	1.19	1.19	5.293	3.863	1.86	sp Q7KNA0 DJYM_DROME	Dymeclin OS=Drosophila melanogaster GN=CG8230 PE=1 SV=1	DROME	1	
492	475	1.15	1.15	17.04	1.558	0.8763	sp Q24368 ISWL_DROME	Chromatin-remodeling complex ATPase chain Iswi OS=Drosophila melanogaster GN=Iswi PE=1 SV=1	DROME	1	
493	476	1.15	1.15	10.38	3.806	3.806	sp Q46084 PGAM5_DROME	Serine/threonine-protein phosphatase Pgam5, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=Pgam5 PE=1 SV=1	DROME	1	
494	477	1.12	1.12	22.86	8.312	6.234	sp P20354 GNAS_DROME	G protein alpha s subunit OS=Drosophila melanogaster GN=Galphas PE=2 SV=1	DROME	2	
495	478	1.10	1.1	4.72	12.8	12.8	sp Q9VW12 U389_DROME	UPF0389 protein CG9231 OS=Drosophila melanogaster GN=CG9231 PE=1 SV=1	DROME	1	
496	479	1.09	1.09	15.37	4.192	1.796	sp Q9V773 C6A20_DROME	Probable cytochrome P450 6a20 OS=Drosophila melanogaster GN=Cyp6a20 PE=2 SV=2	DROME	2	
497	480	1.09	1.09	24.62	11.54	11.54	sp Q9VPD2 NUBP2_DROME	Cytosolic Fe-S cluster assembly factor NUBP2 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=CG4858 PE=2 SV=1	DROME	1	
498	481	1.04	1.04	19.75	7.963	2.144	sp Q7K4H4 NO66_DROME	Bifunctional lysine-specific demethylase and histidyl-hydroxylase NO66 OS=Drosophila melanogaster GN=CG2982 PE=1 SV=1	DROME	1	
499	482	1.03	1.03	11.81	3.518	3.518	sp P45890 ARP6_DROME	Actin-related protein 6 OS=Drosophila melanogaster GN=Arp6 PE=1 SV=1	DROME	1	
500	483	0.97	0.97	12.55	2.353	2.353	sp Q27333 NT56_DROME	Lethal(2)neighbour of tid protein OS=Drosophila melanogaster GN=(K2)not PE=1 SV=1	DROME	1	
501	483	0.00	0.97	11.78	2.479	2.479	sp P82149 NT53_DROME	Lethal(2)neighbour of tid protein 2 OS=Drosophila melanogaster GN=(K2)not2 PE=2 SV=1	DROME	1	
502	484	0.95	0.95	12.5	12.5	12.5	sp P49858 CNI_DROME	Protein cornichon OS=Drosophila melanogaster GN=cni PE=1 SV=1	DROME	1	
503	485	0.94	0.94	6.865	2.517	2.517	sp Q9VMQ7 ELP4_DROME	Putative elongator complex protein 4 OS=Drosophila melanogaster GN=CG6907 PE=1 SV=1	DROME	1	
504	486	0.88	0.88	22.12	1.717	1.717	sp P22817 IDE_DROME	Insulin-degrading enzyme OS=Drosophila melanogaster GN=Ide PE=1 SV=4	DROME	1	
505	487	0.88	0.88	27.52	3.931	3.931	sp Q9V345 CSN4_DROME	COP9 signalosome complex subunit 4 OS=Drosophila melanogaster GN=CSN4 PE=1 SV=1	DROME	1	
506	488	0.87	0.87	8.946	3.834	3.834	sp Q9W328 LST8_DROME	Protein LST8 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Lst8 PE=2 SV=2	DROME	1	
507	489	0.84	0.84	8.761	0.584	0.584	sp RRRRRsp Q9VCX1 RG5_DROME	REVERSED Regulator of G-protein signaling loco OS=Drosophila melanogaster GN=loco PE=1 SV=2	DROME	1	
508	490	0.84	0.84	7.143	1.752	1.752	sp Q9VAD6 COG7_DROME	Conserved oligomeric Golgi complex subunit 7 OS=Drosophila melanogaster GN=Cog7 PE=2 SV=2	DROME	1	
509	491	0.82	0.82	42.14	17.73	10.37	sp RRRRRsp P50887 RL22_DROME	REVERSED 60S ribosomal protein L22 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpl22 PE=1 SV=2	DROME	2	
510	492	0.81	0.82	3.321	1.283	1.283	sp P22293 SUS_DROME	Protein suppressor of sable OS=Drosophila melanogaster GN=su(s) PE=1 SV=2	DROME	1	
511	493	0.81	0.81	17.17	0.9381	0.9381	sp P46863 KL61_DROME	Bipolar kinesin KRP-130 OS=Drosophila melanogaster GN=Klp61F PE=1 SV=2	DROME	1	
512	494	0.80	0.8	11.96	1.151	1.151	sp Q9VYQ8 UBP7_DROME	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 7 OS=Drosophila melanogaster GN=Usp7 PE=1 SV=1	DROME	1	
513	495	0.78	0.78	10.31	3.07	3.07	sp P83293 GR64A_DROME	Gustatory receptor for sugar taste 64a OS=Drosophila melanogaster GN=Gr64a PE=2 SV=1	DROME	1	
514	496	0.77	2.88	15.81	2.635	2.635	sp Q7PZY1 EIF3B_ANOGA	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit B OS=Anopheles gambiae GN=EIF3-S9 PE=3 SV=3	ANOGA	2	
515	497	0.77	0.77	10.2	1.826	1.826	sp Q817C3 LASP1_DROME	LIM and SH3 domain protein Lasp OS=Drosophila melanogaster GN=Lasp PE=1 SV=2	DROME	1	
516	498	0.75	0.75	21.87	4.374	1.789	sp Q46106 NOI_DROME	Splicing factor 3A subunit 3 OS=Drosophila melanogaster GN=noi PE=1 SV=1	DROME	1	
517	499	0.75	0.75	13.84	5.251	2.387	sp Q9VSA3 ACADM_DROME	Probable medium-chain specific acyl-CoA dehydrogenase, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=CG12262 PE=1 SV=1	DROME	1	
518	500	0.75	0.75	23.81	7.483	7.483	sp P25867 UBCD1_DROME	Ubiquitin-conjugating enzyme E2-17 kDa OS=Drosophila melanogaster GN=eff PE=2 SV=1	DROME	1	
519	501	0.72	0.72	16.01	4.676	2.338	sp Q94545 ASH2_DROME	Set1/Ash2 histone methyltransferase complex subunit ASH2 OS=Drosophila melanogaster GN=ash2 PE=1 SV=2	DROME	1	
520	502	0.70	0.7	17.53	1.62	1.62	sp Q27597 NCPR_DROME	NADPH-cytochrome P450 reductase OS=Drosophila melanogaster GN=Cpr PE=2 SV=2	DROME	1	

Table 4 共免疫沈降-ショットガン質量分析により同定されたタンパクのリスト(続き)

同定タンパク質										
No	N	Unused	Total	%Cov	%Cov(50)	%Cov(95)	Accession	Name	Species	Peptides
521	503	0.67	0.67	23.06	3.956	2.456	sp Q9VGW6 MCM5_DROME	DNA replication licensing factor Mcm5 OS=Drosophila melanogaster GN=Mcm5 PE=1 SV=1	DROME	1
522	504	0.66	0.66	19.25	1.615	0.4365	sp Q00963 SPTCB_DROME	Spectrin beta chain OS=Drosophila melanogaster GN=beta-Spec PE=1 SV=2	DROME	1
523	505	0.66	0.66	62.23	8.511	3.191	sp P26686 SRR55_DROME	Serine-arginine protein 55 OS=Drosophila melanogaster GN=B52 PE=1 SV=4	DROME	1
524	506	0.63	6.82	15.32	11.95	11.95	sp P48810 RB87F_DROME	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein 87F OS=Drosophila melanogaster GN=Hrb87F PE=2 SV=2	DROME	5
525	507	0.63	0.63	18.38	2.174	2.174	sp Q9VIW7 RTCB_DROME	tRNA-splicing ligase RtcB homolog OS=Drosophila melanogaster GN=CG9987 PE=2 SV=1	DROME	1
526	508	0.62	0.63	12.76	2.05	2.05	sp P04282 GAG17_DROME	Retrovirus-related Gag polyprotein from copia-like transposable element 17.6 OS=Drosophila melanogaster GN=gag PE=4 SV=1	DROME	1
527	509	0.62	0.62	26.02	4.878	4.878	sp Q9V7D2 VATD1_DROME	V-type proton ATPase subunit D 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Vha36-1 PE=2 SV=1	DROME	1
528	510	0.61	0.61	16.13	9.677	5.069	sp Q9XZT1 MED18_DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 18 OS=Drosophila melanogaster GN=MED18 PE=1 SV=1	DROME	1
529	511	0.59	0.59	14.5	0.333	0.333	sp Q9VB11 UNC80_DROME	Protein unc-80 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=unc80 PE=1 SV=5	DROME	1
530	512	0.58	0.58	8.947	1.184	1.184	sp Q960X8 HRS_DROME	Hepatocyte growth factor-regulated tyrosine kinase substrate OS=Drosophila melanogaster GN=Hrs PE=1 SV=1	DROME	1
531	513	0.58	0.58	15.82	8.861	8.861	sp Q9NFP5 SH3BG_DROME	SH3 domain-binding glutamic acid-rich protein homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Sh3beta PE=1 SV=2	DROME	1
532	514	0.57	0.57	16.31	4.079	0	sp Q7K4Q5 Y0417_DROME	Probable protein phosphatase CG10417 OS=Drosophila melanogaster GN=CG10417 PE=1 SV=1	DROME	0
533	515	0.55	0.55	2.866	2.866	2.866	RRRRRsp P34846 NU1M.ANOGA	REVERSED NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 OS=Anopheles gambiae GN=mtND1 PE=3 SV=1	ANOGA	1
534	515	0.00	0.55	2.885	2.885	2.885	RRRRRsp P18929 NU1M.DROME	REVERSED NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 OS=Drosophila melanogaster GN=mtND1 PE=3 SV=2	DROME	1
535	516	0.52	0.52	7.37	1.084	1.084	sp Q8SY33 GAWKY_DROME	Protein Gawkly OS=Drosophila melanogaster GN=gw PE=1 SV=1	DROME	1
536	517	0.51	0.51	30.52	5.628	0	sp Q9VKD3 NFS1_DROME	Probable cysteine desulfurase, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=CG12264 PE=2 SV=1	DROME	0
537	518	0.51	0.51	60.94	23.44	0	sp P40792 RAC1_DROME	Ras-related protein Rac1 OS=Drosophila melanogaster GN=Rac1 PE=1 SV=2	DROME	0
538	519	0.50	0.5	7.648	1.275	1.275	sp Q9VDR1 MED25_DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 25 OS=Drosophila melanogaster GN=MED25 PE=2 SV=1	DROME	1
539	520	0.50	0.5	9.375	6.25	6.25	sp P04388 RAS2_DROME	Ras-like protein 2 OS=Drosophila melanogaster GN=Ras64B PE=1 SV=2	DROME	1
540	521	0.49	0.49	15.69	0.6989	0.6989	sp Q7KQM6 PERQ1_DROME	PERQ amino acid-rich with GYF domain-containing protein CG11148 OS=Drosophila melanogaster GN=CG11148 PE=1 SV=2	DROME	1
541	522	0.49	0.49	22	1.664	1.664	RRRRRsp Q9VC57 ATLAS_DROME	REVERSED Atlastin OS=Drosophila melanogaster GN=atl PE=1 SV=1	DROME	1
542	523	0.48	0.48	12.56	1.555	1.555	sp Q9V7N5 VATC.DROME	V-type proton ATPase subunit C OS=Drosophila melanogaster GN=Vha44 PE=2 SV=5	DROME	1
543	524	0.46	0.46	29.31	1.127	1.127	RRRRRsp Q03427 LAMC.DROME	REVERSED Lamin-C OS=Drosophila melanogaster GN=LamC PE=1 SV=2	DROME	1
544	524	2.03	2.03	17.24	1.744	1.274	sp Q9NBD7 CLASP_DROME	CLIP-associating protein OS=Drosophila melanogaster GN=chb PE=1 SV=1	DROME	1
545	525	0.43	0.43	8	1.143	1.143	RRRRRsp P13677 KPC2.DROME	REVERSED Protein kinase C, eye isozyme OS=Drosophila melanogaster GN=inaC PE=1 SV=1	DROME	1
546	526	0.41	0.41	14.32	1.579	1.579	sp A1Z9E2 LIN54_DROME	Protein lin-54 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=mip120 PE=1 SV=1	DROME	1
547	527	0.41	0.41	14.86	1.292	1.292	sp Q9VYV5 FUT8_DROME	Alpha-(1,6)-fucosyltransferase OS=Drosophila melanogaster GN=FucT6 PE=1 SV=1	DROME	1
548	528	0.39	0.39	18.67	4.667	4.667	RRRRRsp Q9VEX9 SAP18.DROME	REVERSED Histone deacetylase complex subunit SAP18 OS=Drosophila melanogaster GN=Bn1 PE=1 SV=1	DROME	1
549	529	0.38	0.38	8.624	1.015	0	RRRRRsp Q9V496 ALPL.DROME	REVERSED Apolipoporphins OS=Drosophila melanogaster GN=Rfabg PE=1 SV=2	DROME	0
550	530	0.38	0.38	18.55	4.301	0	sp P92208 JNK.DROME	Stress-activated protein kinase JNK OS=Drosophila melanogaster GN=bsk PE=1 SV=1	DROME	0
551	531	0.38	0.38	5.552	1.045	1.045	sp Q9I7T7 Y1505_DROME	La-related protein CG11505 OS=Drosophila melanogaster GN=CG11505 PE=1 SV=2	DROME	1
552	532	0.38	0.38	3.32	1.107	1.107	sp P22808 VND.DROME	Homeobox protein vnd OS=Drosophila melanogaster GN=vnd PE=1 SV=3	DROME	1
553	533	0.37	0.37	10.4	2.475	2.475	sp Q7JWR9 ZC3HF.DROME	Zinc finger CCHC domain-containing protein 15 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=CG8635 PE=1 SV=1	DROME	1
554	534	0.36	0.36	16.25	1.729	0	sp Q9VP22 CDK12.DROME	Cyclin-dependent kinase 12 OS=Drosophila melanogaster GN=Cdk12 PE=1 SV=1	DROME	0
555	535	0.35	0.35	16.22	0.9685	0.9685	sp Q9V4P1 ANLN.DROME	Actin-binding protein anillin OS=Drosophila melanogaster GN=scra PE=1 SV=3	DROME	1
556	536	0.35	0.35	41.3	7.065	0	sp Q9NHDS SAN.DROME	Probable N-acetyltransferase san OS=Drosophila melanogaster GN=san PE=1 SV=1	DROME	0
557	537	0.34	0.34	22.07	3.989	0	sp P40417 ERK.DROME	Mitogen-activated protein kinase ERK-A OS=Drosophila melanogaster GN=r1 PE=1 SV=3	DROME	0
558	538	0.33	0.33	13	1.495	0	sp Q7KML2 ACOX1.DROME	Probable peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase 1 OS=Drosophila melanogaster GN=CG5009 PE=1 SV=1	DROME	0
559	539	0.32	0.32	20.31	0.9234	0	RRRRRsp Q8IRG6 SPT16.DROME	REVERSED FACT complex subunit spt16 OS=Drosophila melanogaster GN=dre4 PE=1 SV=2	DROME	0
560	540	0.32	0.32	3.877	1.292	1.292	RRRRRsp Q9VYV5 FUT8.DROME	REVERSED Alpha-(1,6)-fucosyltransferase OS=Drosophila melanogaster GN=FucT6 PE=1 SV=1	DROME	1
561	541	0.31	0.31	14.67	2.2	0	sp P48608 DIA.DROME	Protein diaphanous OS=Drosophila melanogaster GN=dia PE=2 SV=2	DROME	0
562	542	0.31	0.31	29.74	6.209	0	sp Q9VAQ5 DIM1.DROME	Probable dimethyladenosine transferase OS=Drosophila melanogaster GN=CG11837 PE=2 SV=1	DROME	0
563	543	0.30	0.3	17.14	3.571	0	sp Q7PPU9 BND7A.ANOGA	Band 7 protein AGAP004871 OS=Anopheles gambiae GN=AGAP004871 PE=3 SV=3	ANOGA	0
564	543	0.00	0.3	4.356	1.98	0	sp Q9VZA4 BND7A.DROME	Band 7 protein CG42540 OS=Drosophila melanogaster GN=CG42540 PE=2 SV=2	DROME	0
565	544	0.29	0.29	22.75	2.309	0	sp Q26454 MCM4.DROME	DNA replication licensing factor MCM4 OS=Drosophila melanogaster GN=dpa PE=1 SV=2	DROME	0
566	545	0.29	0.29	3.251	0.4645	0	RRRRRsp Q24298 CADE.DROME	REVERSED DE-cadherin OS=Drosophila melanogaster GN=shg PE=1 SV=2	DROME	0
567	546	0.29	0.29	6.126	1.383	0	RRRRRsp Q9V7P1 UTP18.DROME	REVERSED U3 small nucleolar RNA-associated protein 18 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=wcd PE=1 SV=1	DROME	0
568	547	0.28	0.28	14.64	4.984	0	sp P22465 ANX10.DROME	Annexin B10 OS=Drosophila melanogaster GN=AnxB10 PE=2 SV=3	DROME	0
569	548	0.27	0.27	6.447	0.5128	0	sp P39770 SALM.DROME	Homeotic protein spalt-major OS=Drosophila melanogaster GN=salm PE=1 SV=3	DROME	0
570	549	0.26	0.26	7.895	1.579	0	RRRRRsp Q9VJ87 CWC22.DROME	REVERSED Pre-mRNA-splicing factor CWC22 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=ncm PE=1 SV=3	DROME	0
571	550	0.26	0.26	12.04	5.093	0	sp Q917K5 TMEDE.DROME	Transmembrane emp24 domain-containing protein eca OS=Drosophila melanogaster GN=eca PE=2 SV=2	DROME	0
572	551	0.24	0.24	13.67	1.903	0	sp Q9VK89 TRM1.DROME	Probable tRNA (guanine(26)-N(2))-dimethyltransferase OS=Drosophila melanogaster GN=CG6388 PE=2 SV=1	DROME	0
573	552	0.23	0.23	22.16	1.571	0	RRRRRsp Q02649 CH60.DROME	REVERSED 60 kDa heat shock protein, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp60 PE=1 SV=3	DROME	0
574	553	0.23	0.23	6.84	0.7042	0	RRRRRsp P35875 PARP.DROME	REVERSED Poly (ADP-ribose) polymerase OS=Drosophila melanogaster GN=Parp PE=2 SV=1	DROME	0
575	554	0.23	0.23	24.1	2.28	0	RRRRRsp Q9V9Z9 EBP2.DROME	REVERSED Probable rRNA-processing protein EBP2 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=CG1542 PE=2 SV=1	DROME	0
576	555	0.23	0.23	14.71	3.595	0	sp Q9VHN6 RM19.DROME	39S ribosomal protein L19, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=mRpL19 PE=2 SV=1	DROME	0
577	556	0.23	0.23	9.441	0.8159	0	sp Q9V4Z9 LINES.DROME	Protein lines OS=Drosophila melanogaster GN=lin PE=1 SV=1	DROME	0
578	557	0.23	0.23	6.292	1.091	0	sp Q46072 KZ.DROME	Probable ATP-dependent RNA helicase kurz OS=Drosophila melanogaster GN=kz PE=1 SV=1	DROME	0
579	558	0.23	0.23	4.605	4.605	0	RRRRRsp Q27415 NLP.DROME	REVERSED Nucleoplasmin-like protein OS=Drosophila melanogaster GN=Nlp PE=1 SV=1	DROME	0
580	559	0.22	0.23	23.6	5.337	5.337	sp Q9V595 DCUP.DROME	Uroporphyrinogen decarboxylase OS=Drosophila melanogaster GN=Udpd PE=3 SV=1	DROME	1
581	560	0.22	0.23	16.48	4.945	0	sp P15372 ARRA.DROME	Phosrestin-2 OS=Drosophila melanogaster GN=Arr1 PE=1 SV=1	DROME	0
582	561	0.22	0.23	8.264	8.264	0	sp Q9XZF0 YIPP.DROME	Protein yippe OS=Drosophila melanogaster GN=Yippe PE=1 SV=1	DROME	0
583	562	0.22	0.22	4.874	0.6459	0	RRRRRsp P29617 PROS.DROME	REVERSED Homeobox protein prospero OS=Drosophila melanogaster GN=pros PE=1 SV=3	DROME	0
584	563	0.21	0.21	9.286	0.3846	0	sp Q9W5D0 Y34F.DROME	Uncharacterized protein CG43867 OS=Drosophila melanogaster GN=CG43867 PE=1 SV=4	DROME	0
585	564	0.20	0.51	19.32	5.314	0	sp Q03427 LAMC.DROME	Lamin-C OS=Drosophila melanogaster GN=LamC PE=1 SV=2	DROME	0

Table 4 共免疫沈降-ショットガン質量分析により同定されたタンパクのリスト(続き)

固定タンパク質										
No	N	Unused	Total	%Cov	%Cov(50)	%Cov(95)	Accession	Name	Species	Peptides
586	565	0.20	0.21	17.84	13.69	0	splQ9VIU7 DPM1.DROME	Probable dolichol-phosphate mannosyltransferase OS=Drosophila melanogaster GN=CG10166 PE=3 SV=1	DROME	0
587	566	0.20	0.2	17.83	0.7692	0	RRRRRsp Q9VMA7 TGO1.DRO	REVERSED Transport and Golgi organization protein 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Tango1 PE=1 SV=2	DROME	0
588	567	0.20	0.2	9.028	1.115	0	RRRRRsp Q7KU24 CHD1.DRO	REVERSED Chromodomain-helicase-DNA-binding protein 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Chd1 PE=1 SV=1	DROME	0
589	568	0.19	0.19	5.301	0.4952	0	RRRRRsp P18490 PCX.DROME	REVERSED Protein pectanec OS=Drosophila melanogaster GN=pcx PE=2 SV=3	DROME	0
590	569	0.19	0.19	15.82	2.231	0	splQ01637 UMPS.DROME	Uridine 5'-monophosphate synthase OS=Drosophila melanogaster GN=r-1 PE=2 SV=2	DROME	0
591	570	0.19	0.19	10.83	1.575	0	splP46824 KLC.DROME	Kinesin light chain OS=Drosophila melanogaster GN=Klc PE=1 SV=1	DROME	0
592	571	0.19	0.19	6.931	3.3	0	splQ27884 PPP6.DROME	Serine/threonine-protein phosphatase 6 catalytic subunit OS=Drosophila melanogaster GN=PpV PE=2 SV=1	DROME	0
593	572	0.19	0.19	4.944	2.921	0	splQ24318 TFDP.DROME	Transcription factor Dp OS=Drosophila melanogaster GN=Dp PE=1 SV=2	DROME	0
594	573	0.18	0.19	9.551	1.545	0	splQ7KKH3 SDA1.DROME	Protein SDA1 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Mys45A PE=1 SV=1	DROME	0
595	574	0.18	0.18	3.032	0.4198	0	RRRRRsp P09208 INSR.DROME	REVERSED Insulin-like receptor OS=Drosophila melanogaster GN=InR PE=1 SV=3	DROME	0
596	575	0.18	0.18	17.13	2.528	0	splQ9VGYS METI5.DROME	Probable methyltransferase-like protein 15 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=CG14683 PE=2 SV=2	DROME	0
597	576	0.18	0.18	19.68	8.434	0	splQ8MSX2 MED6.DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 6 OS=Drosophila melanogaster GN=MED6 PE=1 SV=1	DROME	0
598	577	0.18	0.18	7.524	2.508	0	RRRRRsp Q9VRS6 TM10A.DRO	REVERSED tRNA methyltransferase 10 homolog A OS=Drosophila melanogaster GN=trmt10a PE=2 SV=1	DROME	0
599	578	0.17	0.17	7.862	1.106	0	splQ7Q0Q1 MCM6.ANOGA	DNA replication licensing factor Mcm6 OS=Anopheles gambiae GN=Mcm6 PE=3 SV=3	ANOGA	0
600	579	0.17	0.17	19.12	19.12	0	splQ9VWE9 S61G2.DROME	Protein transport protein Sec61 gamma-2 subunit OS=Drosophila melanogaster GN=Sec61gamma PE=3 SV=1	DROME	0
601	579	0.00	0.17	19.12	19.12	0	splQ9V668 S61G1.DROME	Protein transport protein Sec61 gamma-1 subunit OS=Drosophila melanogaster GN=SEC61G1 PE=3 SV=1	DROME	0
602	580	0.16	0.16	6.248	0.3999	0	splQ9VGA8 ANKHM.DROME	Ankyrin repeat and KH domain-containing protein mask OS=Drosophila melanogaster GN=mask PE=1 SV=2	DROME	0
603	581	0.16	0.16	31.98	2.387	0	RRRRRsp P54359 SEPT2.DRO	REVERSED Septin-2 OS=Drosophila melanogaster GN=Sept2 PE=2 SV=2	DROME	0
604	582	0.16	0.16	12.27	4.746	0	splQ8INB9 AKT1.DROME	RAC serine/threonine-protein kinase OS=Drosophila melanogaster GN=Akt1 PE=1 SV=3	DROME	0
605	583	0.16	0.16	14.12	1.789	0	splP82711 C6A19.DROME	Probable cytochrome P450 6a19 OS=Drosophila melanogaster GN=Cyp6a19 PE=3 SV=1	DROME	0
606	584	0.16	0.16	12.22	2.963	2.963	RRRRRsp O18405 SURF4.DRO	REVERSED Surfeit locus protein 4 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Surf4 PE=2 SV=1	DROME	1
607	585	0.16	0.16	6.95	3.475	0	RRRRRsp Q7QGS3 NUBP2.ANOGA	REVERSED Cytosolic Fe-S cluster assembly factor NUBP2 homolog OS=Anopheles gambiae GN=AGAP010873 PE=3 SV=4	ANOGA	0
608	586	0.15	0.15	13.65	1.905	0	splQ7K0L4 WDR26.DROME	WD repeat-containing protein 26 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=CG7611 PE=1 SV=1	DROME	0
609	587	0.15	0.15	18.45	3.321	0	RRRRRsp P46223 RL7A.DROME	REVERSED 60S ribosomal protein L7a OS=Drosophila melanogaster GN=RpL7A PE=1 SV=2	DROME	0
610	588	0.15	0.15	7.418	4.154	0	splQ9VVL6 MED19.DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 19 OS=Drosophila melanogaster GN=MED19 PE=2 SV=1	DROME	0
611	589	0.14	0.14	11.19	0.2879	0	splQ8IRW8 TRR.DROME	Histone-lysine N-methyltransferase trr OS=Drosophila melanogaster GN=trr PE=1 SV=2	DROME	0
612	590	0.14	0.14	9.672	0.6557	0	splQ9VK33 SMBT.DROME	Polycomb protein Sfmt OS=Drosophila melanogaster GN=Sfmt PE=1 SV=2	DROME	0
613	591	0.14	0.14	22.94	3.226	0	RRRRRsp P12881 PSA1.DROME	REVERSED Proteasome subunit alpha type-1 OS=Drosophila melanogaster GN=Prosalpha6 PE=1 SV=1	DROME	0
614	592	0.14	0.14	10.86	3.9	0	splP49071 MAPK2.DROME	MAP kinase-activated protein kinase 2 OS=Drosophila melanogaster GN=MAPK-Ak2 PE=2 SV=1	DROME	0
615	593	0.14	0.14	27.22	6.111	0	splP25160 ARL1.DROME	ADP-ribosylation factor-like protein 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Arl1 PE=2 SV=5	DROME	0
616	594	0.13	0.13	13.58	0.4496	0	RRRRRsp P05990 PYR1.DROME	REVERSED CAD protein OS=Drosophila melanogaster GN=r PE=1 SV=3	DROME	0
617	595	0.13	0.13	7.365	1.146	0	splQ9W568 HFW1.DROME	Protein halfway OS=Drosophila melanogaster GN=hfw PE=1 SV=3	DROME	0
618	596	0.13	0.13	7.471	2.299	0	splQ9VGZ0 C12E1.DROME	Probable cytochrome P450 12e1, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=Cyp12e1 PE=2 SV=4	DROME	0
619	597	0.13	0.13	19.4	3.448	0	splP52485 UBCD2.DROME	Ubiquitin-conjugating enzyme E2-24 kDa OS=Drosophila melanogaster GN=Ubc2 PE=2 SV=1	DROME	0
620	598	0.13	0.13	11.84	7.368	0	RRRRRsp Q7K2D2 DCTN2.DRO	REVERSED Probable dynactin subunit 2 OS=Drosophila melanogaster GN=Dmn PE=1 SV=1	DROME	0
621	599	0.13	0.13	6.569	2.19	0	splQ7KNS3 LIS1.DROME	Lisencephaly-1 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Lis-1 PE=1 SV=2	DROME	0
622	600	0.12	0.12	15.07	0.543	0	RRRRRsp Q9VEN1 FLNA.DRO	REVERSED Filamin-A OS=Drosophila melanogaster GN=cher PE=1 SV=2	DROME	0
623	601	0.12	0.12	15.72	1.394	0	RRRRRsp Q9VF87 CYFIP.DRO	REVERSED Cytoplasmic FMR1-interacting protein OS=Drosophila melanogaster GN=Sra-1 PE=1 SV=1	DROME	0
624	602	0.12	0.12	12.74	0.5747	0	splQ9VRP9 BRE1.DROME	E3 ubiquitin-protein ligase Bre1 OS=Drosophila melanogaster GN=Bre1 PE=1 SV=2	DROME	0
625	603	0.12	0.12	5.502	1.187	0	RRRRRsp Q9W1R5 VIR.DROME	REVERSED Protein virilizer OS=Drosophila melanogaster GN=vir PE=1 SV=1	DROME	0
626	604	0.12	0.12	9.198	2.891	0	splQ24151 STAT.DROME	Signal transducer and transcription activator OS=Drosophila melanogaster GN=Stat92E PE=1 SV=1	DROME	0
627	605	0.12	0.12	3.202	1.464	0	splQ9VLS1 KPBB.DROME	Probable phosphorylase b kinase regulatory subunit beta OS=Drosophila melanogaster GN=CG8475 PE=2 SV=2	DROME	0
628	606	0.11	0.12	5.666	0.4089	0	RRRRRsp Q9VZ08 RME6.DROME	REVERSED Receptor-mediated endocytosis protein 6 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=CG1657 PE=1 SV=2	DROME	0
629	607	0.11	0.12	11.73	5.864	0	splP48596 GCH1.DROME	GTP cyclohydrolase 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Pu PE=2 SV=3	DROME	0
630	608	0.11	0.12	8.176	2.306	0	splQ8SYS7 NARF.DROME	Probable cytosolic Fe-S cluster assembly factor CG17683 OS=Drosophila melanogaster GN=CG17683 PE=2 SV=1	DROME	0
631	609	0.11	0.11	27.89	1.316	0	RRRRRsp Q9VN25 EIF3A.DRO	REVERSED Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit A OS=Drosophila melanogaster GN=elf3-S10 PE=1 SV=1	DROME	0
632	610	0.11	0.11	9.137	4.061	0	splQ9VL31 RIP.DROME	RIP-like protein OS=Drosophila melanogaster GN=Ripalpa PE=2 SV=1	DROME	0
633	611	0.10	0.11	12.88	1.171	0	RRRRRsp Q9W1V6 PPO3.DRO	REVERSED Phenoloxidase 3 OS=Drosophila melanogaster GN=PPO3 PE=1 SV=1	DROME	0
634	612	0.10	0.11	6.74	1.913	0	RRRRRsp Q9GQNO RBP16.DRO	REVERSED Ran-binding protein 16 OS=Drosophila melanogaster GN=Ranbp16 PE=2 SV=1	DROME	0
635	613	0.10	0.1	10.18	1.482	0	splQ9VLL0 ACSF4.DROME	Acyl-CoA synthetase family member 4 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=U26 PE=2 SV=3	DROME	0
636	614	0.10	0.1	25.93	5.291	0	splQ9VX98 DENR.DROME	Density-regulated protein homolog OS=Drosophila melanogaster GN=DENR PE=1 SV=3	DROME	0
637	615	0.10	0.1	17.09	2.764	0	RRRRRsp Q9W1P8 OR59B.DRO	REVERSED Odorant receptor 59b OS=Drosophila melanogaster GN=Or59b PE=1 SV=1	DROME	0
638	616	0.09	0.1	11.5	2.124	0	splQ8IQF1 MOCs1.DROME	Molybdenum cofactor biosynthesis protein 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Mocs1 PE=2 SV=1	DROME	0
639	617	0.09	0.09	10.91	0.2486	0	RRRRRsp Q70PP2 SMG1.DRO	REVERSED Serine/threonine-protein kinase Smg1 OS=Drosophila melanogaster GN=nonC PE=1 SV=2	DROME	0
640	618	0.09	0.09	12.71	1.439	0	splQ0E9G3 KTU.DROME	Protein kintoun OS=Drosophila melanogaster GN=Nop171 PE=1 SV=1	DROME	0
641	619	0.09	0.09	5.58	0.62	0	RRRRRsp P20028 RPA2.DROME	REVERSED DNA-directed RNA polymerase I subunit RPA2 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpl135 PE=2 SV=2	DROME	0
642	620	0.09	0.09	5.636	0.578	0	RRRRRsp Q8SY33 GAWKY.DRO	REVERSED Protein Gawkky OS=Drosophila melanogaster GN=gw PE=1 SV=1	DROME	0
643	621	0.09	0.09	9.871	4.292	0	splQ7Q6B5 WBG.ANOGA	Partner of Y14 and mago OS=Anopheles gambiae GN=Pym PE=3 SV=4	ANOGA	0
644	622	0.09	0.09	2.462	1.172	0	RRRRRsp P10383 OTU.DROME	REVERSED Protein ovarian tumor locus OS=Drosophila melanogaster GN=otu PE=2 SV=2	DROME	0
645	623	0.09	0.09	11.47	5.505	0	RRRRRsp Q7Q6Y4 MED20.ANOGA	REVERSED Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 20 OS=Anopheles gambiae GN=MED20 PE=3 SV=6	ANOGA	0
646	624	0.08	0.09	9.344	0.3594	0	splQ9VW15 ASH1.DROME	Histone-lysine N-methyltransferase ash1 OS=Drosophila melanogaster GN=ash1 PE=1 SV=3	DROME	0
647	625	0.08	0.08	10.69	0.6567	0	splQ7KRW8 PRP39.DROME	Pre-mRNA-processing factor 39 OS=Drosophila melanogaster GN=CG1646 PE=1 SV=1	DROME	0
648	626	0.08	0.08	12.19	1.071	0	splQ7YU81 CHN.DROME	Protein charlatan OS=Drosophila melanogaster GN=chn PE=2 SV=3	DROME	0
649	627	0.08	0.08	15.72	2.457	0	splQ9VP47 TSR1.DROME	Pre-rRNA-processing protein TSR1 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=CG7338 PE=1 SV=1	DROME	0
650	628	0.08	0.08	15.82	0.8929	0	splP46867 KLP68.DROME	Kinesin-like protein Klp68D OS=Drosophila melanogaster GN=Klp68D PE=2 SV=2	DROME	0

Table 4 共免疫沈降-ショットガン質量分析により同定されたタンパクのリスト(続き)

同定タンパク質										
No	N	Unused	Total	%Cov	%Cov(50)	%Cov(95)	Accession	Name	Species	Peptides
651	629	0.08	0.08	6.766	1.155	0	sp Q9W590 LSG1_DROME	Large subunit GTPase 1 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Ns3 PE=1 SV=1	DROME	0
652	630	0.08	0.08	13.62	2.786	0	sp Q9VCU5 MTG1_DROME	Mitochondrial ribosome-associated GTPase 1 OS=Drosophila melanogaster GN=CG17141 PE=1 SV=2	DROME	0
653	631	0.08	0.08	6.375	0.75	0	sp Q7K4N3 NCBP1_DROME	Nuclear cap-binding protein subunit 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Cbp80 PE=1 SV=1	DROME	0
654	632	0.08	0.08	15.77	1.512	0	sp P13468 K10_DROME	DNA-binding protein K10 OS=Drosophila melanogaster GN=fs(1)K10 PE=2 SV=2	DROME	0
655	633	0.08	0.08	14.8	4.834	0	sp Q9W1G0 TALDO_DROME	Probable transaldolase OS=Drosophila melanogaster GN=Tal PE=2 SV=2	DROME	0
656	634	0.08	0.08	12	1.778	0	RRRRRsp P06605 TBA3_DROME	REVERSED Tubulin alpha-3 chain OS=Drosophila melanogaster GN=alphaTub84D PE=2 SV=1	DROME	0
657	634	0.00	0.08	5.111	1.778	0	RRRRRsp P06603 TBA1_DROME	REVERSED Tubulin alpha-1 chain OS=Drosophila melanogaster GN=alphaTub84B PE=2 SV=1	DROME	0
658	634	0.00	0.08	1.782	1.782	0	RRRRRsp P06604 TBA2_DROME	REVERSED Tubulin alpha-2 chain OS=Drosophila melanogaster GN=alphaTub85E PE=1 SV=1	DROME	0
659	635	0.07	0.16	12.45	1.732	0	RRRRRsp P18091 ACTN_DROME	REVERSED Alpha-actinin, sarcomeric OS=Drosophila melanogaster GN=Actn PE=1 SV=2	DROME	0
660	636	0.07	0.15	43.09	4.787	0	RRRRRsp P26686 SRR5_DROME	REVERSED Serine-arginine protein 55 OS=Drosophila melanogaster GN=B52 PE=1 SV=4	DROME	0
661	637	0.07	0.08	13.06	1.802	0	sp Q6WV16 GALT6_DROME	N-acetylgalactosaminyltransferase 6 OS=Drosophila melanogaster GN=pgant6 PE=2 SV=2	DROME	0
662	638	0.07	0.08	12.12	5.303	0	sp Q94535 U2AF1_DROME	Splicing factor U2af 38 kDa subunit OS=Drosophila melanogaster GN=U2af38 PE=1 SV=2	DROME	0
663	639	0.07	0.07	9.975	0.2814	0	sp Q9NDJ2 DOM_DROME	Helicase domino OS=Drosophila melanogaster GN=dom PE=1 SV=2	DROME	0
664	640	0.07	0.07	16.46	1.519	0	RRRRRsp P23226 MA205_DROME	REVERSED 205 kDa microtubule-associated protein OS=Drosophila melanogaster GN=Map205 PE=1 SV=2	DROME	0
665	641	0.07	0.07	20.28	0.8724	0	RRRRRsp P35220 CTNA_DROME	REVERSED Catenin alpha OS=Drosophila melanogaster GN=alpha-Cat PE=1 SV=2	DROME	0
666	642	0.07	0.07	13.54	1.421	0	sp Q917F7 PR2_DROME	Tyrosine-protein kinase PR2 OS=Drosophila melanogaster GN=PR2 PE=1 SV=3	DROME	0
667	643	0.07	0.07	8.98	0.7484	0	sp Q9V7A4 IT4A_DROME	Integrin alpha-PS4 OS=Drosophila melanogaster GN=ItgaPS4 PE=1 SV=2	DROME	0
668	644	0.07	0.07	13.51	1.577	0	RRRRRsp Q9W497 GR05A_DROME	REVERSED Gustatory receptor 5a for trehalose OS=Drosophila melanogaster GN=Gr5a PE=1 SV=2	DROME	0
669	645	0.07	0.07	7.587	1.054	0	sp Q9Y0H4 SUDX_DROME	E3 ubiquitin-protein ligase Su(dx) OS=Drosophila melanogaster GN=Su(dx) PE=1 SV=1	DROME	0
670	646	0.07	0.07	7.815	1.914	0	sp Q9VUL1 PYRG_DROME	CTP synthase OS=Drosophila melanogaster GN=CTPsyn PE=1 SV=2	DROME	0
671	647	0.07	0.07	12.09	2.36	0	sp Q9VN19 GET4_DROME	Golgi to ER traffic protein 4 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=CG9853 PE=2 SV=1	DROME	0
672	648	0.07	0.07	4.161	1.578	0	sp P55965 BYN_DROME	T-related protein OS=Drosophila melanogaster GN=byn PE=2 SV=2	DROME	0
673	649	0.07	0.07	3.137	3.137	0	sp Q9VCG3 OPA32_DROME	Putative OPA3-like protein CG13603 OS=Drosophila melanogaster GN=CG13601 PE=2 SV=1	DROME	0
674	650	0.07	0.07	8.169	8.169	0	sp Q9VAF0 S39AD_DROME	Zinc transporter ZIP13 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Zip99C PE=2 SV=1	DROME	0
675	651	0.06	12.66	33.81	13.74	9.321	sp P11146 HSP7B_DROME	Heat shock 70 kDa protein cognate 2 OS=Drosophila melanogaster GN=Hsc70-2 PE=1 SV=2	DROME	11
676	652	0.06	0.07	10.18	0.6598	0	sp Q9V853 SMUF1_DROME	E3 ubiquitin-protein ligase Smurf1 OS=Drosophila melanogaster GN=lack PE=1 SV=3	DROME	0
677	653	0.06	0.07	9.349	1.155	0	sp Q9VUA0 GPTC1_DROME	G patch domain-containing protein 1 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=CG8833 PE=2 SV=1	DROME	0
678	654	0.06	0.06	14.87	0.364	0	RRRRRsp Q9W596 FUTSC_DROME	REVERSED Microtubule-associated protein futsch OS=Drosophila melanogaster GN=futsch PE=1 SV=4	DROME	0
679	655	0.06	0.06	19.12	0.5311	0	RRRRRsp Q9W252 RAD50_DROME	REVERSED DNA repair protein RAD50 OS=Drosophila melanogaster GN=rad50 PE=2 SV=4	DROME	0
680	656	0.06	0.06	17.53	0.5097	0.5097	sp Q9VIF5 DEL_DROME	Protein deadlock OS=Drosophila melanogaster GN=del PE=1 SV=2	DROME	1
681	657	0.06	0.06	4.126	0.3993	0	sp P28167 ZFH2_DROME	Zinc finger protein 2 OS=Drosophila melanogaster GN=zfh2 PE=1 SV=2	DROME	0
682	658	0.06	0.06	6.547	0.6278	0	sp O44386 IT3A_DROME	Integrin alpha-PS3 OS=Drosophila melanogaster GN=scb PE=1 SV=2	DROME	0
683	659	0.06	0.06	15.82	2.344	0	sp P50536 MSL3_DROME	Protein male-specific lethal-3 OS=Drosophila melanogaster GN=msl-3 PE=1 SV=2	DROME	0
684	660	0.06	0.06	16.42	1.698	0	RRRRRsp P20439 CCNB_DROME	REVERSED G2/mitotic-specific cyclin-B OS=Drosophila melanogaster GN=CycB PE=1 SV=2	DROME	0
685	661	0.06	0.06	13.91	2.826	0	sp O76464 NFT1_DROME	Nitrilase and fragile histidine triad fusion protein NitFhit OS=Drosophila melanogaster GN=NitFhit PE=1 SV=1	DROME	0
686	662	0.06	0.06	2.333	2.333	0	sp Q9VMC9 KFA_DROME	Kynurenine formamidase OS=Drosophila melanogaster GN=Kfase PE=1 SV=1	DROME	0
687	663	0.05	19.35	29.96	28.19	24.23	sp P08841 TBB3_DROME	Tubulin beta-3 chain OS=Drosophila melanogaster GN=betaTub60D PE=2 SV=2	DROME	16
688	664	0.05	0.06	13.3	1.506	0	sp Q9W1A4 TAMO_DROME	Protein tamozhennic OS=Drosophila melanogaster GN=tamo PE=1 SV=1	DROME	0
689	665	0.05	0.05	17.85	0.3958	0	RRRRRsp Q8MS51 LVA_DROME	REVERSED Protein lava lamp OS=Drosophila melanogaster GN=lva PE=1 SV=2	DROME	0
690	666	0.05	0.05	7.533	0	0	RRRRRsp Q9VR91 HERC2_DROME	REVERSED Probable E3 ubiquitin-protein ligase HERC2 OS=Drosophila melanogaster GN=HERC2 PE=1 SV=3	DROME	0
691	667	0.05	0.05	16.25	0.6734	0	RRRRRsp Q6J5K9 ARMI_DROME	REVERSED Probable RNA helicase armi OS=Drosophila melanogaster GN=armi PE=1 SV=4	DROME	0
692	668	0.05	0.05	15.61	2.011	0	RRRRRsp Q9VRP9 BRE1_DROME	REVERSED E3 ubiquitin-protein ligase Bre1 OS=Drosophila melanogaster GN=Bre1 PE=1 SV=2	DROME	0
693	669	0.05	0.05	11.05	1.26	0	sp Q27571 NOS_DROME	Nitric oxide synthase OS=Drosophila melanogaster GN=Nos PE=2 SV=3	DROME	0
694	670	0.05	0.05	6.29	0.3901	0	sp Q9V4A7 PLXB_DROME	Plexin-B OS=Drosophila melanogaster GN=PlexB PE=1 SV=2	DROME	0
695	671	0.05	0.05	9.601	0.5908	0	sp P35421 PUR4_DROME	Phosphoribosylformylglycinamide synthase OS=Drosophila melanogaster GN=ade2 PE=1 SV=2	DROME	0
696	672	0.05	0.05	17.12	3.654	0	RRRRRsp Q7KW39 MMSA_DROME	REVERSED Probable methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase [acylating], mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=CG17896 PE=2 SV=1	DROME	0
697	673	0.05	0.05	15.84	3.04	0	sp Q9VDG2 RLIP_DROME	RalA-binding protein 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Rlip PE=1 SV=1	DROME	0
698	674	0.05	0.05	31.25	7.692	0	sp Q917K0 JUPIT_DROME	Microtubule-associated protein Jupiter OS=Drosophila melanogaster GN=Jupiter PE=1 SV=2	DROME	0
699	675	0.05	0.05	6.443	0.726	0	sp Q7PQ25 CCDCX_ANOGA	Coiled-coil domain-containing protein AGAP005037 OS=Anopheles gambiae GN=AGAP005037 PE=4 SV=4	ANOGA	0
700	676	0.05	0.05	17.66	2.523	0	sp P51406 BYS_DROME	Bystin OS=Drosophila melanogaster GN=bys PE=1 SV=2	DROME	0
701	677	0.05	0.05	2.243	0.3451	0	RRRRRsp Q868Z9 PPN_DROME	REVERSED Papilin OS=Drosophila melanogaster GN=Ppn PE=1 SV=2	DROME	0
702	678	0.05	0.05	17.79	2.321	0	sp Q7JUY7 CED6_DROME	PTB domain-containing adapter protein ced-6 OS=Drosophila melanogaster GN=ced-6 PE=1 SV=1	DROME	0
703	679	0.05	0.05	10.58	2.771	0	sp Q8SWU7 OLA1_DROME	Ogg-like ATPase 1 OS=Drosophila melanogaster GN=CG1354 PE=1 SV=1	DROME	0
704	680	0.05	0.05	9.809	1.675	0	RRRRRsp P32392 ARP3_DROME	REVERSED Actin-related protein 3 OS=Drosophila melanogaster GN=Arp3 PE=2 SV=3	DROME	0
705	681	0.05	0.05	3.634	1.172	0	sp P10383 OTU_DROME	Protein ovarian tumor locus OS=Drosophila melanogaster GN=otu PE=2 SV=2	DROME	0
706	682	0.05	0.05	7.418	3.561	0	sp P54367 KC1A_DROME	Casein kinase I isoform alpha OS=Drosophila melanogaster GN=CKIalpha PE=1 SV=1	DROME	0
707	683	0.05	0.05	1.613	1.613	0	sp Q9VGG8 MTH5_DROME	Probable G-protein coupled receptor Mth-like 5 OS=Drosophila melanogaster GN=mth5 PE=2 SV=2	DROME	0
708	684	0.05	0.05	3.155	3.155	0	RRRRRsp Q9VXV9 WCSD_DROME	REVERSED WSCD family member CG9164 OS=Drosophila melanogaster GN=CG9164 PE=2 SV=1	DROME	0

Table 4 共免疫沈降-ショットガン質量分析により同定されたタンパクのリスト(続き)

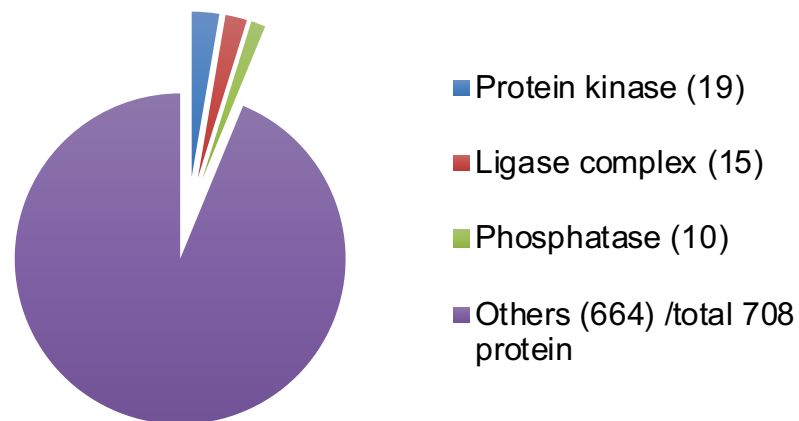


Fig. 7 共免疫沈降-ショットガン質量分析にて同定されたタンパクの機能分類

共免疫沈降-ショットガン質量分析にて同定された計 708 のタンパクを The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID) bioinformatics resources 6.8 と、その後 National Center for Biotechnology Information (NCBI)にもとづくマニュアル編集により機能分類を行った。

Protein kinase (19)	Ligase complex (15)	Phosphatase (10)
tub	Bre1	CanA-14F
pII	CG1749	CG10417
Akt1	eff	flfI
bsk	faf	mts
Cdk1	Herc2	Pgam5
Cdk12	hyd	Pp1-87B
CkIalpha	lig	Pp2A-29B
CkIIalpha	Nedd8	Pp2B-14D
CkIIbeta	Smurf1	Pp4-19C
dco	Su(dx)	PpV
ial	Ubc12	
inaC	Ubc2	
MAPk-Ak2	Ubiq	
mnb	Uch	
polo	Usp7	
rl		
sgg		
Smg1		
14-3-3 epsilon		

Table 5 共免疫沈降-ショットガン質量分析にて同定されたタンパクのリスト

ショットガン質量分析により同定されたタンパクの機能分類を行った結果, プロテインキナーゼ関連, リガーゼ関連, フォスファターゼ関連に分類されたタンパクのリストを示す.

N	Unused	Total	%Cov	%Cov(50)	%Cov(65)	Accessions	Names	Contrib	Conf	Sequence	Modifications	Sc
26	38.37	38.37	90.13	81.58	71.05	sp P41044 RS18.DROME	40S ribosomal protein S18 OS=Drosophila melanogaster GN=Rs18 PE=1 SV=1	0	60.11	LNVRQZIDQKWKQLTSSINDSK	Phospho(S)@2; Phospho(K)@11	13
379	2.18	2.18	16.74	1.417	0.7083	sp Q9W0P3 MED14.DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 14 OS=Drosophila melanogaster GN=MED14 PE=1 SV=4	0.163676	83.24	SNGDLAPPAK	Phospho(S)@1	6
549	0.26	0.26	7.895	1.579	0	RRRRRsp Q9VJ87 CWC22.DROME	REVERSED Pre-mRNA-splicing factor CWC22 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=rcm PE=1 SV=3	0.197911	90.07	SOXKRTKPPSK	Phospho(S)@11	8
549	0.26	0.26	7.895	1.579	0	RRRRRsp Q9VJ87 CWC22.DROME	REVERSED Pre-mRNA-splicing factor CWC22 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=rcm PE=1 SV=3	0	26.38	SOXKRTKPPSK	Phospho(S)@11	6
600	0.12	0.12	15.07	0.543	0	RRRRRsp Q9VEN1 FLNA.DROME	REVERSED Flamin-A OS=Drosophila melanogaster GN=chr PE=1 SV=2	0.105884	83.1	LAVSVMLKQSR	Phospho(S)@11	8
642	0.07	0.07	13.54	1.421	0	sp Q9T1F7 PR2.DROME	Tyrosine-protein kinase PR2 OS=Drosophila melanogaster GN=PR2 PE=1 SV=3	0.003926	15.53	DLAANLVFSKQK	Phospho(S)@11	5
563	0.21	0.21	9.286	0.3846	0	sp Q9W6D0 Y4F.DROME	Uncharacterized protein C943867 OS=Drosophila melanogaster GN=C943867 PE=1 SV=4	0.004804	15.57	TLNKGJRETFPSR	Phospho(S)@12	4
216	8.14	8.14	31.15	6.949	5.536	sp Q9V8P8 41.DROME	Protein 41 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=cora PE=1 SV=1	0.013228	15.37	WNKPQDVARIQLR	Phospho(S)@13	8
341	3.35	3.35	16.97	2.746	2.746	sp Q28NM3 SLE.DROME	Protein slender lobes OS=Drosophila melanogaster GN=sle PE=1 SV=1	0.010945	30.42	DAGKGSFLKFTLSK	Phospho(S)@15	6
140	13.14	13.14	61.81	50.75	46.73	sp Q55556 RSMB.DROME	Small nuclear ribonucleoprotein-associated protein B OS=Drosophila melanogaster GN=SnB PE=1 SV=1	0.022276	17.42	NSKVPREKR	Phospho(S)@2	5
229	7.8	7.8	35.29	14	9.143	sp P20400 NCD.DROME	Protein claret segregational OS=Drosophila melanogaster GN=cd PE=1 SV=1	0.003926	75.63	GSNVLVDLAGESPKTSTR	Phospho(S)@2	11
229	7.8	7.8	35.29	14	9.143	sp P20400 NCD.DROME	Protein claret segregational OS=Drosophila melanogaster GN=cd PE=1 SV=1	0	16.5	GSNVLVDLAGESPKTSTR	Phospho(S)@2	10
90	20.01	20.01	81.69	73.24	68.08	sp P202518 HSP27.DROME	Heat shock protein 27 OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp27 PE=1 SV=2	0	91.99	RGGSPVALLPAVAK	Phospho(S)@3	10
477	1.12	1.12	22.86	8.312	6.224	sp P20354 GNAS.DROME	G-protein alpha 5 subunit OS=Drosophila melanogaster GN=Galpha5 PE=2 SV=1	0.048177	60.61	RRSDNSR	Phospho(S)@3	5
53	28.48	28.48	56.1	40.55	35.93	sp Q44081 DKC1.DROME	H/ACA ribonucleoprotein complex subunit 4 OS=Drosophila melanogaster GN=Hog88B PE=1 SV=1	0.173277	50.69	LWISQSGAK	Phospho(S)@4	6
56	25.73	25.73	86.45	65.36	60.54	sp P07487 G3P2.DROME	Glyceraledehyde-3-phosphate dehydrogenase 2 OS=Drosophila melanogaster GN=Gdh2 PE=1 SV=2	0.033269	15.39	AGSLNDKLVFK	Phospho(S)@4	5
96	19.42	19.42	27.29	8.588	6.585	sp P05590 PR1.DROME	CAD protein OS=Drosophila melanogaster GN=PR1 PE=1 SV=3	0.511449	90.52	KGESLEDSK	Phospho(S)@4	8
110	17.04	17.04	64.74	57.69	46.79	sp P39018 RS194.DROME	40S ribosomal protein S19a OS=Drosophila melanogaster GN=Rps19a PE=1 SV=3	0.107905	46.66	KLSSIQGR	Phospho(S)@4	4
314	4	16.11	71.99	51.81	46.99	sp P07466 G3P1.DROME	Glyceraledehyde-3-phosphate dehydrogenase 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Gdh1 PE=2 SV=2	0	15.39	AGSLNDKLVFK	Phospho(S)@4	5
566	0.2	0.2	17.83	0.7692	0	RRRRRsp Q9VMA7 TGO.DROME	REVERSED Transport and Gqg organization protein 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Targp1 PE=1 SV=2	0.002177	42.79	TKASTLEOVNHADK	Phospho(S)@4	6
409	2.01	2.01	8.102	0.8273	0.8273	sp Q9VKG1 HANG.DROME	Zinc finger protein hanger OS=Drosophila melanogaster GN=hng PE=1 SV=3	0.007889	17.45	EPSTNKHQVGVTPQDR	Phospho(S)@4; Carbamidomethyl(C)@10	6
397	2.04	2.04	21.36	3.495	1.942	sp Q9VCW1 CPB04.DROME	Probable cytochrome P450 6d4 OS=Drosophila melanogaster GN=Cygd4 PE=2 SV=1	0	15.12	ITVDSLWK	Phospho(S)@5	5
623	0.09	0.09	11.47	5.505	0	RRRRRsp Q708V4 MED20.ANOGA	REVERSED Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 20 OS=Anopheles gambiae GN=MED20 PE=3 SV=6	0.085657	80.48	TQKKSTVAPAR	Phospho(S)@5	6
33	35.39	35.39	63.42	60.82	60.32	sp P22812 TUBE.DROME	Protein Tube OS=Drosophila melanogaster GN=Tube PE=1 SV=4	0	95.11	SVQPQSGNTPIAPP	Phospho(S)@6	10
73	22.54	22.54	37.79	20.12	16.7	sp Q7KU73 LONN.DROME	Lon protease homolog, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=Lon PE=1 SV=1	0.089376	81.86	GRPPRSRTYK	Phospho(S)@6	8
73	22.54	22.54	37.79	20.12	16.7	sp Q7KU73 LONN.DROME	Lon protease homolog, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=Lon PE=1 SV=1	0	81.77	GRPPRSRTYK	Phospho(S)@6	10
73	22.54	22.54	37.79	20.12	16.7	sp Q7KU73 LONN.DROME	Lon protease homolog, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=Lon PE=1 SV=1	0	52.61	GRPPRSRTYK	Phospho(S)@6	9
379	2.18	2.18	16.74	1.417	0.7083	sp Q9W0P3 MED14.DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 14 OS=Drosophila melanogaster GN=MED14 PE=1 SV=4	0.007005	15.01	LPALLSELR	Phospho(S)@6	4
350	2.99	2.99	13.39	2.719	2.719	sp Q9V8F2 MED24.DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 24 OS=Drosophila melanogaster GN=MED24 PE=1 SV=2	0.016374	27.95	RAEPIVSGVLK	Phospho(S)@7	5
602	0.12	0.12	12.74	0.3747	0	sp Q9V8P3 BRE1.DROME	E3 ubiquitin-protein ligase Bre1 OS=Drosophila melanogaster GN=Bre1 PE=1 SV=2	0.006584	20.98	SLQATVASEK	Phospho(S)@8	4
159	11.58	11.58	49.82	30.4	30.4	sp Q9VXK0 NPSV.DROME	Protein Nbsnap OS=Drosophila melanogaster GN=Nbsnap PE=2 SV=2	0.027234	19.67	NLLAVKSNMNAVR	Phospho(S)@8	5
401	2.03	2.03	18.75	2.155	1.197	sp Q01989 MYCS.DROME	Myosin heavy chain 95F OS=Drosophila melanogaster GN=9F PE=2 SV=4	0.004804	48.92	DMRWYKLSSQTSVSGCAK	Phospho(S)@8	7
613	0.1	0.1	10.18	1.482	0	sp Q9VL04 ACSF4.DROME	AcyL-CoA synthetase family member 4 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=L26 PE=2 SV=3	0.092589	81.51	IEEPKFAFLELPR	Phospho(S)@9	8
626	0.08	0.08	12.19	1.071	0	sp Q7YJ81 CHN.DROME	Protein charlatan OS=Drosophila melanogaster GN=chm PE=2 SV=3	0.083546	80.15	VOPPAPVTSLLKR	Phospho(S)@9	9
147	12.47	12.47	53.55	47.1	35.48	sp Q0E9B6 RS11.DROME	40S ribosomal protein S11 OS=Drosophila melanogaster GN=Rs11 PE=1 SV=1	0.00869	20.12	TKKKLLR	Phospho(T)@1	5

Table 6 免疫沈降-ショットガン質量分析により同定されたリン酸化ペプチド

ショットガン質量解析にて同定されたリン酸化ペプチドのリストを示す. 計 68 のリン酸化ペプチドが同定されている. Modifications のカラムに Phospho(X)@Y と表示されているが, X はリン酸化されているアミノ酸の種類, Y は同定ペプチド中のリン酸化アミノ酸の N 末端からの位置を示す.

N	Unused	Total	%Cov	%Cov(50)	%Cov(95)	Accessions	Names	Contrib	Conf	Sequence	Modifications	Sc
191	932	932	46.73	27.89	25.63	sf O1873 SPS1_DROME	Selenide, water kinase OS=Drosophila melanogaster GN=SeP PE=2 SV=1	0.002614	1637	TARIDKPR	Phospho(T)@1	4
284	487	487	4.87	19.62	0.9485	sf P27276 DHC_DROME	Dynein heavy chain, cytoplasmic OS=Drosophila melanogaster GN=Dhc64C PE=2 SV=2	0.000435	6004	TGRVLTLDQ	Phospho(T)@1	8
669	005	0.05	11.05	1.26	0	sf Q27571 NOS_DROME	Nitric oxide synthase OS=Drosophila melanogaster GN=Nos PE=2 SV=3	0.009217	3036	TPTSLWKOK	Phospho(T)@1	6
386	213	2.13	85.85	34.91	26.42	sf P26566 TZAG_DROME	Transcription initiation factor IIA, subunit 2 OS=Drosophila melanogaster GN=TFIIA-S PE=1 SV=1	0.001305	1752	VTRKAGKLTNR	Phospho(T)@10	4
284	487	487	4.87	19.62	0.9485	sf P27276 DHC_DROME	Dynein heavy chain, cytoplasmic OS=Drosophila melanogaster GN=Dhc64C PE=2 SV=2	0.014574	2146	VASPDWVPLDTVRR	Phospho(T)@13	8
390	207	2.07	80.99	0.468	0.468	sf P56824 FAF_DROME	Probable ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase FAF OS=Drosophila melanogaster GN=faf PE=1 SV=2	0.021363	3578	LTQQLLR	Phospho(T)@2	7
568	019	0.19	5.301	0.4952	0	RRRRsp P18490 PCX_DROME	REVERSED Protein pecanex OS=Drosophila melanogaster GN=pcx PE=2 SV=3	0.103474	8152	LRTVTAQLK	Phospho(T)@3	9
229	78	7.8	35.29	14	9.143	sf P20480 NOD_DROME	Protein claret segregational OS=Drosophila melanogaster GN=clc4 PE=1 SV=1	0.019088	5948	QHTAKETITSLGR	Phospho(T)@3; Phospho(S)@11	7
184	967	9.67	26.02	7.465	5.987	sf P00967 PUR2_DROME	Trifunctional purine biosynthetic protein, adenosine-3 OS=Drosophila melanogaster GN=adb3 PE=1 SV=2	0.000869	1881	AHTGGGLSENP	Phospho(T)@4	5
185	963	9.63	33.82	9.275	8.406	sf Q23979 MYO61F_DROME	Myosin-1B OS=Drosophila melanogaster GN=Myo61F PE=1 SV=3	0.010995	1746	ELPTVLDK	Phospho(T)@4	4
568	019	0.19	5.301	0.4952	0	RRRRsp P18490 PCX_DROME	REVERSED Protein pecanex OS=Drosophila melanogaster GN=pcx PE=2 SV=3	0	3267	LRTVTAQLK	Phospho(T)@4	8
597	013	0.13	19.4	3.448	0	sf P24651 UBC2_DROME	Ubiquitin-conjugating enzyme E2-24 Ub OS=Drosophila melanogaster GN=Ubc2 PE=2 SV=1	0.013228	3553	IARLWTKR	Phospho(T)@6	5
52	2686	26.86	74.32	52.84	40.42	sf Q24208 JFG_DROME	Eukaryotic translation initiation factor 2, subunit 3 OS=Drosophila melanogaster GN=elf-2 gamma PE=2 SV=1	0.067019	2578	LLGRTDQKK	Phospho(T)@6	5
92	1984	19.85	48.55	28.14	22.83	sf P08928 LMO_DROME	Lamin Dm0 OS=Drosophila melanogaster GN=Lam PE=1 SV=4	0.020907	1988	NSTRATPSR	Phospho(T)@6	5
194	92	9.2	57.39	27.83	27.83	sf P46630 RL36_DROME	60S ribosomal protein L36 OS=Drosophila melanogaster GN=Rpl36 PE=1 SV=1	0.008774	1815	LKNIQTRTKFMR	Phospho(T)@6	5
598	013	0.13	11.84	7.368	0	RRRRsp Q7422 DCTN2_DROME	REVERSED Probable dynein, subunit 2 OS=Drosophila melanogaster GN=Dmn PE=1 SV=1	0.031517	5711	ATSVTAVADYSQK	Phospho(T)@6	7
665	005	0.05	17.85	0.3958	0	RRRRsp Q8855 ILVA_DROME	REVERSED Protein lava lamp OS=Drosophila melanogaster GN=La PE=1 SV=2	0.036684	6444	LAELTQDRAR	Phospho(T)@6	9
340	342	3.42	25.62	18.13	11.87	sf Q9VA02 NHP2_DROME	H1ACA ribonucleoprotein complex subunit 2-like protein OS=Drosophila melanogaster GN=NHP2 PE=1 SV=1	0	3773	MGKRGTVALLVR	Phospho(T)@7	10
664	005	0.06	13.3	1.506	0	sf Q9W1A4 TAMO_DROME	Protein tamozhenic OS=Drosophila melanogaster GN=Tamo PE=1 SV=1	0.054039	7304	KFLPETGHLVR	Phospho(T)@7	7
664	005	0.06	13.3	1.506	0	sf Q9W1A4 TAMO_DROME	Protein tamozhenic OS=Drosophila melanogaster GN=Tamo PE=1 SV=1	0	1584	KFLPETGHLVR	Phospho(T)@7	4
677	005	0.05	2.243	0.3451	0	RRRRsp Q88329 PPN_DROME	REVERSED Papain OS=Drosophila melanogaster GN=Ppn PE=1 SV=2	0.046757	6891	NLEVTQYWK	Phospho(T)@7	7
457	166	1.66	15.33	3.039	1.519	sf Q9VS46 RINT1_DROME	RINT1-like protein OS=Drosophila melanogaster GN=C86G05 PE=2 SV=2	0.000869	258	NLATKATNEMKAK	Phospho(T)@7; Oxidation(M)@10	7
127	1461	14.61	48.77	39.75	35.25	sf Q8YZJ4 PSA6_DROME	Proteasome subunit alpha type-6 OS=Drosophila melanogaster GN=Prosa6al PE=1 SV=2	0	246	NVPETVTLFR	Phospho(T)@8	6
166	1114	11.14	24.73	8.608	7.511	sf P23226 MA205_DROME	20S kDa microtubule-associated protein OS=Drosophila melanogaster GN=Mag205 PE=1 SV=2	0	2434	STSSTTVR	Phospho(T)@8	5
166	1114	11.14	24.73	8.608	7.511	sf P23226 MA205_DROME	20S kDa microtubule-associated protein OS=Drosophila melanogaster GN=Mag205 PE=1 SV=2	0	1502	STSSTTVR	Phospho(T)@8	5
169	1089	10.89	41.33	19.37	12.55	sf P13469 MODU_DROME	DNA-binding protein modu OS=Drosophila melanogaster GN=mod PE=1 SV=2	0.018181	1795	VAPVEAVITSSRLMPR	Phospho(T)@8	5
33	3539	35.39	63.42	60.82	80.82	sf P22812 TUBE_DROME	Protein Tube OS=Drosophila melanogaster GN=Tube PE=1 SV=4	0	7288	SVDPQSGNTPPAPPR	Phospho(T)@8	5
109	1739	17.39	68.95	55.26	52.11	sf P30882 RL9_DROME	60S ribosomal protein L9 OS=Drosophila melanogaster GN=RpL9 PE=1 SV=2	0.067526	3415	ARVTTTGR	Phospho(T)@9	5
338	35	3.65	9.492	4.746	2.508	sf Q9VPE6 MED1_DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Med1 PE=1 SV=2	0.001305	5255	TLVSSLPFTEPAQVPR	Phospho(T)@9	10
616	009	0.1	11.5	2.124	0	sf Q8IQF1 MOC51_DROME	Molbdenium cofactor biosynthesis protein 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Mocs1 PE=2 SV=1	0.086657	8037	IRLTGSEPTVRR	Phospho(T)@9	9
616	009	0.1	11.5	2.124	0	sf Q8IQF1 MOC51_DROME	Molbdenium cofactor biosynthesis protein 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Mocs1 PE=2 SV=1	0	5267	IRLTGSEPTVRR	Phospho(T)@9	7
621	009	0.09	9.871	4.292	0	sf Q706B5 WBG_ANOGA	Partner of Y14 and mago OS=Anopheles gambiae GN=Pym PE=3 SV=4	0.086166	8061	IREEAETK	Phospho(T)@9	6
39	3311	50.38	77.01	55.91	52.13	sf Q9T125 HSP88_DROME	Heat shock protein 88 OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp88 PE=1 SV=1	0	8325	TAAVLTGYKQAVITPAVNDOR	Phospho(T)@9; GnThr-GlyK@11; Dehydrated@12	16

Table 6 免疫沈降-ショットガン質量分析により同定されたリン酸化ペプチド(続き)

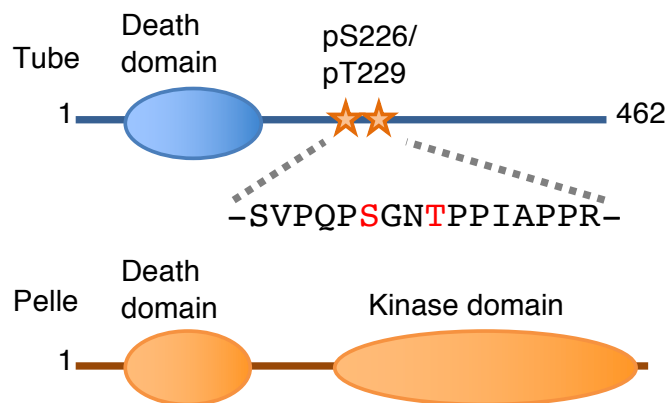


Fig. 8 Tube および Pelle タンパクの構造模式図

質量分析により, Tube の S226 および T229 残基がリン酸化されているペプチド断片が同定された. リン酸化を受ける 226 番目のセリンと 229 番目トレオニンは, 共にデスドメインの C 末端側にあり, 中性のセリンとプロリンが豊富な領域である.

ID	Position	Kinase	Peptide	Score	Cutoff	Homolog in RNAi screen	Homolog in IP/MS
Tube	8 T	AGC/DMPK/ROCK	VPQPSGNTTPIAPP	43.21	12.722	Rok	
Tube	8 T	AGC/GRK/BARK/BARK1	VPQPSGNTTPIAPP	25.738	10.916		
Tube	5 S	AGC/GRK/BARK/BARK1	***VPQPSGNTTPIA	23.095	10.916		
Tube	5 S	AGC/PKC/PKCa/PRKCA	***VPQPSGNTTPIA	17.01	7.372		
Tube	5 S	AGC/GRK/BARK	***VPQPSGNTTPIA	12.628	4.78		
Tube	8 T	AGC/GRK	VPQPSGNTTPIAPP	12.457	7.991		
Tube	5 S	AGC/GRK	***VPQPSGNTTPIA	8.845	7.991		
Tube	8 T	AGC/GRK/BARK	VPQPSGNTTPIAPP	7.186	4.78		
Tube	8 T	AGC/PDK1	VPQPSGNTTPIAPP	6.593	2.39		
Tube	8 T	AGC/PDK1/PDPK1	VPQPSGNTTPIAPP	3.449	1.51		
Tube	8 T	AGC/PKC/PKCa/PRKCA	VPQPSGNTTPIAPP	11.136	7.372		
Tube	5 S	AGC/PKC/PKCa	***VPQPSGNTTPIA	5.978	4.803		
Tube	5 S	Atypical/PDHK/PDHK/PDK1	***VPQPSGNTTPIA	4.838	4.74		
Tube	8 T	Atypical/PIKK/FRAP/MTOR	VPQPSGNTTPIAPP	8.483	4.258		
Tube	8 T	Atypical/PIKK/FRAP	VPQPSGNTTPIAPP	13.556	11.395		
Tube	5 S	CAMK/CAMKL/AMPK/PRKAB1	***VPQPSGNTTPIA	4.333	2.525		
Tube	5 S	CAMK/MAPKAP/MNK/MNK2	***VPQPSGNTTPIA	4	4	Mapk-Ak2	Mapk-Ak2
Tube	5 S	CAMK/PHK	***VPQPSGNTTPIA	4.692	3.785		
Tube	5 S	CK1/CK1	***VPQPSGNTTPIA	10.254	3.998	CK1alpha	
Tube	5 S	CK1/VRK	***VPQPSGNTTPIA	5.7	0.977		
Tube	8 T	CK1/VRK	VPQPSGNTTPIAPP	2	0.977		
Tube	5 S	CK1/VRK/VRK2	***VPQPSGNTTPIA	21.25	5.225		
Tube	8 T	CK1/VRK/VRK2	VPQPSGNTTPIAPP	17.5	5.225		
Tube	8 T	CMGC/CDK/CDK2/CDK2	VPQPSGNTTPIAPP	15.631	12.788	Cdk1	Cdk1
Tube	8 T	CMGC/CDK/CDK5	VPQPSGNTTPIAPP	13.758	12.789		
Tube	8 T	CMGC/CDK/CDK7/CDK7	VPQPSGNTTPIAPP	0.788	0.406		
Tube	8 T	CMGC/DYRK/HIPK/HIPK2	VPQPSGNTTPIAPP	2.517	1.841		
Tube	5 S	CMGC/DYRK/HIPK	***VPQPSGNTTPIA	2.061	2.013		
Tube	8 T	CMGC/DYRK/HIPK	VPQPSGNTTPIAPP	8.03	2.013		
Tube	8 T	CMGC/GSK/GSK3A	VPQPSGNTTPIAPP	8.882	4.488		
Tube	5 S	CMGC/GSK	***VPQPSGNTTPIA	2.749	1.884	sgg	
Tube	8 T	CMGC/GSK	VPQPSGNTTPIAPP	4.337	1.884	sgg	
Tube	8 T	CMGC/MAPK/ERK/Erk2	VPQPSGNTTPIAPP	15.447	10.451		
Tube	5 S	CMGC/MAPK/ERK/Erk3	***VPQPSGNTTPIA	3.25	2.088		
Tube	8 T	CMGC/MAPK/ERK/Erk3	VPQPSGNTTPIAPP	6.25	2.088		
Tube	8 T	CMGC/MAPK/ERK	VPQPSGNTTPIAPP	3.111	2.734		Erk
Tube	8 T	CMGC/MAPK/JNK/JNK1	VPQPSGNTTPIAPP	4.699	3.02		JNK
Tube	8 T	CMGC/MAPK/JNK/JNK3	VPQPSGNTTPIAPP	11.25	11.042		JNK
Tube	8 T	CMGC/MAPK/p38/MAPK11	VPQPSGNTTPIAPP	10.926	8.192		
Tube	8 T	CMGC/MAPK/p38/MAPK12	VPQPSGNTTPIAPP	8.136	6.293		
Tube	8 T	CMGC/MAPK/p38/MAPK14	VPQPSGNTTPIAPP	5.88	3.342		
Tube	8 T	CMGC/MAPK/p38	VPQPSGNTTPIAPP	12.178	7.633		
Tube	5 S	Other/IKK	***VPQPSGNTTPIA	6.734	6.349		
Tube	5 S	Other/NEK/NEK6	***VPQPSGNTTPIA	2.5	2.494		
Tube	5 S	Other/PLK	***VPQPSGNTTPIA	26.117	10.591	polo	polo
Tube	8 T	Other/PLK	VPQPSGNTTPIAPP	16.149	10.591	polo	polo
Tube	5 S	Other/Wnk	***VPQPSGNTTPIA	3.917	3.514		
Tube	5 S	Other/Wnk/Wnk1	***VPQPSGNTTPIA	3.917	3.514		
Tube	8 T	STE/STE20/MST	VPQPSGNTTPIAPP	18.316	9.532		
Tube	5 S	TKL/LISK/LIMK/LIMK1	***VPQPSGNTTPIA	9	9		
Tube	5 S	TKL/LISK/LIMK	***VPQPSGNTTPIA	9	9		
Tube	5 S	TKL/STKR	***VPQPSGNTTPIA	5.625	5.609		
Tube	5 S	TKL/STKR/STKR2	***VPQPSGNTTPIA	1.625	1.344		
Tube	5 S	TKL/STKR/STKR2/TGfR2	***VPQPSGNTTPIA	1.625	1.344		

Table 7 コンセンサス配列に基づく Tube の S226/T229 部位のリン酸化を担う特異的タンパクキナーゼの予測

Group-based prediction system (GPS) 3.0 を用いて、論文報告のあるリン酸化配列に対する類似性をもとに Tube の S226/T229 部位のリン酸化を担う特異的タンパクキナーゼの予測を行った。

N	Unused	Total	%Cov	%Cov(50)	%Cov(95)	Accessions	Names	Contrib	Conf	Sequence	Modifications	Sc
350	299	2,99	13.39	2,719	2,719	sp Q9VSP2 MED14.DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 24 OS=Drosophila melanogaster QH-MED14 PE=1 SV=2	0	2831	SILDNIKR	Deamidated N165; Qn-Tr-Gy-Gy/K167	7
169	1089	10,89	41.33	19,37	12,55	sp P13448 MODULOROME	DNA-binding protein module OS=Drosophila melanogaster QH-modPE=1 SV=2	0.000889	81,75	QSDAIVTALQLDKTYWK	Dehydrated T166; Qn-Gn-Tr-Gy-Gy/K16119	12
246	689	6,89	20.79	5,156	4,311	sp Q9VU03 Y138.DROME	Fornin-like protein Q332138 OS=Drosophila melanogaster QH-Q332138 PE=1 SV=3	0.000889	81,75	SQDAIVTALQLDKTYWK	Dehydrated T166; Qn-Gn-Tr-Gy-Gy/K16119	12
475	1,115	11,15	17.04	1,558	0,876	sp Q24386 ISWI.DROME	Formin-like protein Q332138 OS=Drosophila melanogaster QH-Q332138 PE=1 SV=1	0.000889	1,766	LDLKK	Qn-Gn-Tr-Gy-Gy/K165	7
246	689	6,89	20.79	5,156	4,311	sp Q9VU03 Y138.DROME	Formin-like protein Q332138 OS=Drosophila melanogaster QH-Q332138 PE=1 SV=3	0.000889	1,766	LDLKK	Qn-Gn-Tr-Gy-Gy/K165	7
612	0.1	0.11	6.74	1,813	0	RRRRRsp Q9VSP2 MED14.DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 24 OS=Drosophila melanogaster QH-MED14 PE=1 SV=2	0.000889	1,766	LDLKK	Qn-Gn-Tr-Gy-Gy/K165	7
216	814	8,14	31.15	6,949	5,538	sp Q9V8P4 I.DROME	Protein 4.1 homolog OS=Drosophila melanogaster QH-cora PE=1 SV=1	0.000435	41,93	GAAMAAPKKR	Qn-Tr-Gy-Gy/K111	9
448	1,82	1,82	26.79	6,901	5,548	sp P14328 MC60.DROME	MICOS complex subunit Mc60 OS=Drosophila melanogaster QH-Mc60 PE=1 SV=4	0.001741	2,668	VTGLFGGSDSKKK	Qn-Tr-Gy-Gy/K113	6
92	1,984	19,85	48.55	28,14	22,83	sp P08282 LAMP.DROME	Gaig phosphoprotein 3 homolog sauron OS=Drosophila melanogaster QH-sau PE=1 SV=1	0.002177	5,506	WPKR	Qn-Tr-Gy-Gy/K162	4
423	2	2	21.77	5,782	4,422	sp Q9V053 COLP3.DROME	Gaig phosphoprotein 3 homolog sauron OS=Drosophila melanogaster QH-sau PE=1 SV=1	0	23,69	WPKR	Qn-Tr-Gy-Gy/K162	4
423	2	2	21.77	5,782	4,422	sp Q9V053 COLP3.DROME	Gaig phosphoprotein 3 homolog sauron OS=Drosophila melanogaster QH-sau PE=1 SV=1	0	1,733	WPKR	Qn-Tr-Gy-Gy/K162	4
177	1,002	10,03	34.03	12,67	12,67	sp P2504 POLO.DROME	Series 1/theta kinase polo OS=Drosophila melanogaster QH-polo PE=1 SV=2	0.010105	1,593	IDKK	Qn-Tr-Gy-Gy/K163	4
2	11,312	113,12	52.75	39,71	32,63	sp P13395 SPTCA.DROME	Spectrin alpha chain OS=Drosophila melanogaster QH-alpha-Spec PE=1 SV=2	0.010105	1,593	IDKK	Qn-Tr-Gy-Gy/K163	4
7	73,16	73,17	74.96	68,36	64,67	sp P11147 HSP70.DROME	Heat shock 70 kDa protein cognate 4 OS=Drosophila melanogaster QH-Hsc70-4 PE=1 SV=3	0	1,593	IDKK	Qn-Tr-Gy-Gy/K163	4
28	3,737	49,79	58.54	47,87	46,8	sp P28444 HSP70.DROME	Heat shock 70 kDa protein cognate 3 OS=Drosophila melanogaster QH-Hsc70-3 PE=2 SV=2	0	1,593	IDKK	Qn-Tr-Gy-Gy/K163	4
85	20,45	20,45	53.09	35,02	23,57	sp Q27331 VAT4.DROME	V-type proton ATPase catalytic subunit A isoform 2 OS=Drosophila melanogaster QH-Vha83-2 PE=1 SV=2	0	1,593	IDKK	Qn-Tr-Gy-Gy/K163	4
147	12,47	12,47	55.55	47,1	35,46	sp Q08282 LAMP.DROME	Lamin Dada OS=Drosophila melanogaster QH-Lam PE=1 SV=4	0	1,593	IDKK	Qn-Tr-Gy-Gy/K163	4
162	11,31	11,31	39.1	16,16	12,28	sp Q9V053 COLP3.DROME	ATP-dependent RNA helicase abstract OS=Drosophila melanogaster QH-abs PE=1 SV=1	0	1,593	IDKK	Qn-Tr-Gy-Gy/K163	4
215	8,23	8,23	36.54	20,77	19,42	sp Q27373 TID.DROME	Protein tumorous marginal discs, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster QH-Tid PE=1 SV=2	0	1,593	IDKK	Qn-Tr-Gy-Gy/K163	4
234	74	74	16.37	51.8	4,89	sp A12455 CU.DROME	Protein cuaka OS=Drosophila melanogaster QH-cu PE=1 SV=1	0	1,593	IDKK	Qn-Tr-Gy-Gy/K163	4
276	5,27	5,27	62.58	25,16	20	sp Q9V8P4 I.DROME	60S ribosomal protein L24 OS=Drosophila melanogaster QH-Rpl24 PE=1 SV=1	0	1,593	IDKK	Qn-Tr-Gy-Gy/K163	4
320	3,9	3,9	30.81	13,51	6,161	sp Q7KLW9 P50.1.DROME	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 11 OS=Drosophila melanogaster QH-P50 PE=1 SV=1	0	1,593	IDKK	Qn-Tr-Gy-Gy/K163	4
370	2,4	2,4	35.81	8,651	2,941	sp P46150 MOEH.DROME	Moesin/zettin/radixin homolog 1 OS=Drosophila melanogaster QH-Moe PE=1 SV=2	0	1,593	IDKK	Qn-Tr-Gy-Gy/K163	4
383	2,06	2,06	8.455	9,978	9,978	sp Q9VH71 MED12.DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 12 OS=Drosophila melanogaster QH-Med12 PE=1 SV=2	0	1,593	IDKK	Qn-Tr-Gy-Gy/K163	4
449	1,8	1,8	31.71	3,187	1,214	sp Q9VW52 RAD9.DROME	DNA repair protein RAD9 OS=Drosophila melanogaster QH-rad9 PE=2 SV=4	0	1,593	IDKK	Qn-Tr-Gy-Gy/K163	4
553	0,23	0,23	6.64	0,7042	0	RRRRRsp P3873 PAP.DRO	REVERSED Poly (ADP-ribose) polymerase OS=Drosophila melanogaster QH-Pap PE=2 SV=1	0	1,593	IDKK	Qn-Tr-Gy-Gy/K163	4
584	0,2	0,51	19.32	5,314	0	sp Q03427 LAMP.DROME	Lamin C OS=Drosophila melanogaster QH-LamC PE=1 SV=2	0	1,593	IDKK	Qn-Tr-Gy-Gy/K163	4
601	0,12	0,12	15.72	1,384	0	RRRRRsp Q9V8P4 I.DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 14 OS=Drosophila melanogaster QH-Med14 PE=1 SV=4	0	1,593	IDKK	Qn-Tr-Gy-Gy/K163	4
641	0,07	0,07	20.28	0,8724	0	RRRRRsp P3320 CTNA.DRO	REVERSED Catenin alpha OS=Drosophila melanogaster QH-alpha-Cat PE=1 SV=2	0	1,593	IDKK	Qn-Tr-Gy-Gy/K163	4
684	0,05	0,06	13.3	1,506	0	sp Q9VH71 MED12.DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 12 OS=Drosophila melanogaster QH-Med12 PE=1 SV=2	0	1,593	IDKK	Qn-Tr-Gy-Gy/K163	4
379	2,18	2,18	16.74	1,417	0,7083	sp Q9VW52 RAD9.DROME	DNA repair protein RAD9 OS=Drosophila melanogaster QH-rad9 PE=2 SV=4	0.004385	4,559	LLPRK	Qn-Tr-Gy-Gy/K165	5
482	1,03	1,03	11.81	3,518	3,518	sp P43890 ARRP.DROME	Actin-related protein 6 OS=Drosophila melanogaster QH-Arp6 PE=1 SV=1	0.003488	4,559	LLPRK	Qn-Tr-Gy-Gy/K165	5
656	0,06	0,06	17.53	0,5097	0,5097	sp Q9V8P4 I.DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 14 OS=Drosophila melanogaster QH-Med14 PE=1 SV=4	0.003488	4,559	LLPRK	Qn-Tr-Gy-Gy/K165	5
5	9,776	9,776	82.59	64,34	64,34	sp P13060 EF2.DROME	Elongation factor 2 OS=Drosophila melanogaster QH-EF2 PE=1 SV=4	0.019897	2,778	LVGLK	Qn-Tr-Gy-Gy/K166	6
110	17,04	17,04	64.74	57,69	45,79	sp P39010 RS19A.DROME	40S ribosomal protein S19a OS=Drosophila melanogaster QH-Rs19a PE=1 SV=3	0.006123	2,509	AVAVLK	Qn-Tr-Gy-Gy/K167	7
110	17,04	17,04	64.74	57,69	45,79	sp P39010 RS19A.DROME	40S ribosomal protein S19a OS=Drosophila melanogaster QH-Rs19a PE=1 SV=3	0	1,689	AVAVLK	Qn-Tr-Gy-Gy/K167	8
481	1,04	1,04	19.75	7,963	2,144	sp Q7KH4N NO6.DROME	Bifunctional lysine-specific demethylase and histone-lysine N6 demethylase OS=Drosophila melanogaster QH-C24822 PE=1 SV=1	0	6,889	NTDDELGNPDELVSQVLPFR	Qn-Tr-Gy-Gy/K169	9
685	0,05	0,05	17.85	0,3958	0	RRRRRsp Q8MSS1 LVA.DRO	REVERSED Protein lava lamp OS=Drosophila melanogaster QH-lava PE=1 SV=2	0.001741	3,644	KEQLER	Gy-Gy/K161	6
685	0,05	0,05	17.85	0,3958	0	RRRRRsp Q8MSS1 LVA.DRO	REVERSED Protein lava lamp OS=Drosophila melanogaster QH-lava PE=1 SV=2	0	2,697	KEQLER	Gy-Gy/K161	4
685	0,05	0,05	17.85	0,3958	0	RRRRRsp Q8MSS1 LVA.DRO	REVERSED Protein lava lamp OS=Drosophila melanogaster QH-lava PE=1 SV=2	0	1,768	KEQLER	Gy-Gy/K161	5
20	4,327	43,27	81.39	66,53	66,53	sp Q03825 ATRP.DROME	ATP synthase subunit beta, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster QH-ATPsyn-beta PE=1 SV=3	0	1,634	QLFGAGDYK	Gy-Gy/K161	4
183	9,69	9,7	34.83	15,59	15,59	sp Q24445 IFA1.DROME	Replication protein A 70 kDa DNA-binding subunit OS=Drosophila melanogaster QH-RpA-70 PE=1 SV=1	0	8,873	IGEPYTESWAK	Gy-Gy/K162	8
346	3,17	3,17	19.12	3,458	2,786	sp P13807 ATNA.DROME	Sodium potassium-translocating ATPase subunit alpha OS=Drosophila melanogaster QH-Alpha PE=1 SV=3	0.01055	6,506	AKENLER	Gy-Gy/K162	6

Table 8 免疫沈降-ショットガン質量分析により同定されたユビキチン化および SUMO 化されたペプチド

ショットガン質量解析にて同定されたユビキチン化および SUMO 化されたペプチドのリストを示す。計 104 のユビキチン化および SUMO 化ペプチドが同定されている。

N	Unused	Total	%Cov	%Cov(50)	%Cov(95)	Accessions	Names	Contrib	Conf	Sequence	Modifications	Sc
504	086	086	19.25	1.615	0.4395	sp Q00963 SPTGB.DROME	Spectrin beta chain OS=Drosophila melanogaster GN=beta-Spec PE=1 SV=2	0.006594	62.35	LPKPTGK	GyGyA/i93	6
669	005	005	11.05	1.26	0	sp Q27571 INOS.DROME	Nitric oxide synthase OS=Drosophila melanogaster GN=Nos PE=2 SV=3	0.000869	26.31	GKPKRR	GyGyA/i93	3
59	25.05	25.05	27.6	10.14	7.421	sp Q0VEN1 FLNA.DROME	Flamin-A OS=Drosophila melanogaster GN=chr PE=1 SV=2	0.040959	62.64	FGKHKK	GyGyA/i94	6
92	19.84	19.85	48.55	28.14	22.83	sp P08928 LAM0.DROME	Lamin Dm0 OS=Drosophila melanogaster GN=Lam PE=1 SV=4	0	33.93	YEDKIOR	GyGyA/i94 DeamidatedQ/i96	7
2	113.12	113.12	52.75	39.71	32.63	sp P13395 SPTCA.DROME	Spectrin alpha chain OS=Drosophila melanogaster GN=alpha-Spec PE=1 SV=2	0.050224	52.08	DTTIKR	GyGyA/i95	6
2	113.12	113.12	52.75	39.71	32.63	sp P13395 SPTCA.DROME	Spectrin alpha chain OS=Drosophila melanogaster GN=alpha-Spec PE=1 SV=2	0	30.26	DTTIKR	GyGyA/i95	4
2	113.12	113.12	52.75	39.71	32.63	sp P13395 SPTCA.DROME	Spectrin alpha chain OS=Drosophila melanogaster GN=alpha-Spec PE=1 SV=2	0	15.87	DTTIKR	GyGyA/i95	5
154	11.9	11.9	31.53	17.49	9.729	sp P46591 RRR.DROME	Ribonucleoside-diphosphate reductase large subunit OS=Drosophila melanogaster GN=RRL PE=1 SV=2	0.007446	37.2	MLNKSMMK	GyGyA/i95	5
280	5.09	5.09	14.52	1.954	1.324	sp Q0VL75 POE.DROME	Protein purity of essence OS=Drosophila melanogaster GN=Proe PE=1 SV=1	0.001305	15.76	VNVVKR	GyGyA/i95	3
573	0.18	0.19	9.551	1.345	0	sp Q7KCH3 SDA1.DROME	Protein SDA1 homolog OS=Drosophila melanogaster GN=Mys4A PE=1 SV=1	0.000869	21.37	TNNRKR	GyGyA/i95	4
169	10.89	10.89	41.33	19.37	12.55	sp P13469 MODU.DROME	DNA-binding protein module OS=Drosophila melanogaster GN=mod PE=1 SV=2	2	99	AVTYGKK	GyGyA/i95 DeltaH2/Q22K/i97	6
169	10.89	10.89	41.33	19.37	12.55	sp P13469 MODU.DROME	DNA-binding protein module OS=Drosophila melanogaster GN=mod PE=1 SV=2	0	92.74	AVTYGKK	GyGyA/i95 DeltaH2/Q22K/i97	6
169	10.89	10.89	41.33	19.37	12.55	sp P13469 MODU.DROME	DNA-binding protein module OS=Drosophila melanogaster GN=mod PE=1 SV=2	0	85.45	AVTYGKK	GyGyA/i95 DeltaH2/Q22K/i97	5
169	10.89	10.89	41.33	19.37	12.55	sp P13469 MODU.DROME	DNA-binding protein module OS=Drosophila melanogaster GN=mod PE=1 SV=2	0	81.71	AVTYGKK	GyGyA/i95 DeltaH2/Q22K/i97	6
169	10.89	10.89	41.33	19.37	12.55	sp P13469 MODU.DROME	DNA-binding protein module OS=Drosophila melanogaster GN=mod PE=1 SV=2	0	70.05	AVTYGKK	GyGyA/i95 DeltaH2/Q22K/i97	6
169	10.89	10.89	41.33	19.37	12.55	sp P13469 MODU.DROME	DNA-binding protein module OS=Drosophila melanogaster GN=mod PE=1 SV=2	0	69.71	AVTYGKK	GyGyA/i95 DeltaH2/Q22K/i97	5
169	10.89	10.89	41.33	19.37	12.55	sp P13469 MODU.DROME	DNA-binding protein module OS=Drosophila melanogaster GN=mod PE=1 SV=2	0	66.5	AVTYGKK	GyGyA/i95 DeltaH2/Q22K/i97	6
169	10.89	10.89	41.33	19.37	12.55	sp P13469 MODU.DROME	DNA-binding protein module OS=Drosophila melanogaster GN=mod PE=1 SV=2	0	65.27	AVTYGKK	GyGyA/i95 DeltaH2/Q22K/i97	6
169	10.89	10.89	41.33	19.37	12.55	sp P13469 MODU.DROME	DNA-binding protein module OS=Drosophila melanogaster GN=mod PE=1 SV=2	0	65.27	AVTYGKK	GyGyA/i95 DeltaH2/Q22K/i97	5
169	10.89	10.89	41.33	19.37	12.55	sp P13469 MODU.DROME	DNA-binding protein module OS=Drosophila melanogaster GN=mod PE=1 SV=2	0	65.27	AVTYGKK	GyGyA/i95 DeltaH2/Q22K/i97	6
169	10.89	10.89	41.33	19.37	12.55	sp P13469 MODU.DROME	DNA-binding protein module OS=Drosophila melanogaster GN=mod PE=1 SV=2	0	62.7	AVTYGKK	GyGyA/i95 DeltaH2/Q22K/i97	5
169	10.89	10.89	41.33	19.37	12.55	sp P13469 MODU.DROME	DNA-binding protein module OS=Drosophila melanogaster GN=mod PE=1 SV=2	0	49.05	AVTYGKK	GyGyA/i95 DeltaH2/Q22K/i97	5
169	10.89	10.89	41.33	19.37	12.55	sp P13469 MODU.DROME	DNA-binding protein module OS=Drosophila melanogaster GN=mod PE=1 SV=2	0	46.12	AVTYGKK	GyGyA/i95 DeltaH2/Q22K/i97	7
169	10.89	10.89	41.33	19.37	12.55	sp P13469 MODU.DROME	DNA-binding protein module OS=Drosophila melanogaster GN=mod PE=1 SV=2	0	47.2	AVTYGKK	GyGyA/i95 DeltaH2/Q22K/i97	6
169	10.89	10.89	41.33	19.37	12.55	sp P13469 MODU.DROME	DNA-binding protein module OS=Drosophila melanogaster GN=mod PE=1 SV=2	0	31.3	AVTYGKK	GyGyA/i95 DeltaH2/Q22K/i97	7
169	10.89	10.89	41.33	19.37	12.55	sp P13469 MODU.DROME	DNA-binding protein module OS=Drosophila melanogaster GN=mod PE=1 SV=2	0	29.59	AVTYGKK	GyGyA/i95 DeltaH2/Q22K/i97	5
169	10.89	10.89	41.33	19.37	12.55	sp P13469 MODU.DROME	DNA-binding protein module OS=Drosophila melanogaster GN=mod PE=1 SV=2	0	28.7	AVTYGKK	GyGyA/i95 DeltaH2/Q22K/i97	6
169	10.89	10.89	41.33	19.37	12.55	sp P13469 MODU.DROME	DNA-binding protein module OS=Drosophila melanogaster GN=mod PE=1 SV=2	0	27.45	AVTYGKK	GyGyA/i95 DeltaH2/Q22K/i97	7
169	10.89	10.89	41.33	19.37	12.55	sp P13469 MODU.DROME	DNA-binding protein module OS=Drosophila melanogaster GN=mod PE=1 SV=2	0	23.89	AVTYGKK	GyGyA/i95 DeltaH2/Q22K/i97	6
169	10.89	10.89	41.33	19.37	12.55	sp P13469 MODU.DROME	DNA-binding protein module OS=Drosophila melanogaster GN=mod PE=1 SV=2	0	23.89	AVTYGKK	GyGyA/i95 DeltaH2/Q22K/i97	6
108	17.81	17.81	71.15	58.33	58.33	sp P15357 RS27A.DROME	Ubiquitin-40S ribosomal protein S27a OS=Drosophila melanogaster GN=RbS27A PE=1 SV=2	2	99	LFAGKQLEDGR	GyGyA/i96	19
108	17.81	17.81	71.15	58.33	58.33	sp P15357 RS27A.DROME	Ubiquitin-40S ribosomal protein S27a OS=Drosophila melanogaster GN=RbS27A PE=1 SV=2	0	99	LFAGKQLEDGR	GyGyA/i96	14
108	17.81	17.81	71.15	58.33	58.33	sp P15357 RS27A.DROME	Ubiquitin-40S ribosomal protein S27a OS=Drosophila melanogaster GN=RbS27A PE=1 SV=2	0	99	LFAGKQLEDGR	GyGyA/i96	13
108	17.81	17.81	71.15	58.33	58.33	sp P15357 RS27A.DROME	Ubiquitin-40S ribosomal protein S27a OS=Drosophila melanogaster GN=RbS27A PE=1 SV=2	0	98.45	LFAGKQLEDGR	GyGyA/i96	12
108	17.81	17.81	71.15	58.33	58.33	sp P15357 RS27A.DROME	Ubiquitin-40S ribosomal protein S27a OS=Drosophila melanogaster GN=RbS27A PE=1 SV=2	0	94.84	LFAGKQLEDGR	GyGyA/i96	9
627	0.08	0.08	15.72	2.457	0	sp Q0VP47 TSRI.DROME	Pre-rRNA-processing protein TSRI homolog OS=Drosophila melanogaster GN=CG7338 PE=1 SV=1	0.000869	22.83	IGGQKKR	GyGyA/i96	5
24	41.44	41.44	45.89	20.25	17.45	sp P15348 TOP2.DROME	DNA topoisomerase 2 OS=Drosophila melanogaster GN=Top2 PE=1 SV=1	0.011837	23.54	LNEVEKER	GyGyA/i97	7
73	22.54	22.54	37.79	20.12	16.7	sp Q7KUT2 LOM.DROME	Lon protease homolog, mitochondrial OS=Drosophila melanogaster GN=Lon PE=1 SV=1	0.011837	33.95	EYEVKK	GyGyA/i97	6
350	2.99	2.99	13.39	2.719	2.719	sp Q0V5F2 MED24.DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 24 OS=Drosophila melanogaster GN=MED24 PE=1 SV=2	0.003488	39.01	SLDNKR	GyGyA/i97	7
449	1.8	1.8	31.71	1.871	1.214	sp Q0W232 RAD50.DROME	DNA repair protein RAD50 OS=Drosophila melanogaster GN=rad50 PE=2 SV=4	0.007005	60.93	FYEAGPSKK	GyGyA/i98	7
108	17.81	17.81	71.15	58.33	58.33	sp P15357 RS27A.DROME	Ubiquitin-40S ribosomal protein S27a OS=Drosophila melanogaster GN=RbS27A PE=1 SV=2	1.853872	99	TLSYDNDKSTLHLVLR	GyGyA/i99	15
567	0.2	0.2	9.028	1.115	0	RRRRRQI7KU24 GHD1 DR	REVERSED Chromodomain-helicase-DNA-binding protein 1 OS=Drosophila melanogaster GN=Chd1 PE=1 SV=1	0.008774	72.3	AREQDDAKR	GyGyA/i99	9
417	2	2.01	23.69	2.584	1.436	sp Q08E47 Y6611.DROME	Probable A TP-dependent RNA helicase CG8611 OS=Drosophila melanogaster GN=CG8611 PE=1 SV=1	0	73.35	VENSLNVTYK	GyGyA/i95	11
417	2	2.01	23.69	2.584	1.436	sp Q08E47 Y6611.DROME	Probable A TP-dependent RNA helicase CG8611 OS=Drosophila melanogaster GN=CG8611 PE=1 SV=1	0	70.05	VENSLNVTYK	GyGyA/i95	10
417	2	2.01	23.69	2.584	1.436	sp Q08E47 Y6611.DROME	Probable A TP-dependent RNA helicase CG8611 OS=Drosophila melanogaster GN=CG8611 PE=1 SV=1	0	46.2	VENSLNVTYK	GyGyA/i95	10
417	2	2.01	23.69	2.584	1.436	sp Q08E47 Y6611.DROME	Probable A TP-dependent RNA helicase CG8611 OS=Drosophila melanogaster GN=CG8611 PE=1 SV=1	0	22.21	VENSLNVTYK	GyGyA/i95	10
338	3.5	3.65	9.482	4.746	2.508	sp Q0VP05 MED1.DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 1 OS=Drosophila melanogaster GN=MED1 PE=1 SV=2	0	21.66	AGVPTARSPK	GyGyA/i95	10

Table 8 免疫沈降-ショットガン質量分析により同定されたユビキチン化および SUMO 化されたペプチド(続き)

N	Unused	Total	%Cov	%Cov(50)	%Cov(95)	Accessions	Names	Contrib	Conf	Sequence	Modifications	Sc
6	8527	8527	67.36	62.76	59.55	sp P02828 HSP83_DROME	Heat shock protein 83 OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp83 PE=1 SV=1	0	23.61	SDLYNNLGTIAK	Gly(Gly(T)99; Gly(Gly(K)12	11
2	113.12	113.12	52.75	39.71	32.63	sp P13355 SPTCA_DROME	Spectrin alpha chain OS=Drosophila melanogaster GN=alpha-Spec PE=1 SV=2	0.009661	15.36	KSPR	Leu(Arg(Gly(K)101	3
285	485	485	44.7	11.43	11.43	sp P41572 RPD_DROME	6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating OS=Drosophila melanogaster GN=Pgdi PE=2 SV=1	0	15.36	KSPR	Leu(Arg(Gly(K)101	3
393	2.06	2.06	8.455	0.9878	0.5927	sp Q9VW47 MED12_DROME	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 12 OS=Drosophila melanogaster GN=Ito PE=1 SV=2	0	15.36	KSPR	Leu(Arg(Gly(K)101	3
574	0.18	0.18	3.032	0.4188	0	RRRRFsp P09208 INSR_DROME	REVERSED Insulin-like receptor OS=Drosophila melanogaster GN=InsR PE=1 SV=3	0	15.36	KSPR	Leu(Arg(Gly(K)101	3
275	5.3	5.3	18.19	6.389	6.389	sp Q9VR99 CATIN_DROME	Cactin OS=Drosophila melanogaster GN=cactin PE=1 SV=3	0.002614	25.89	INWREMEFSYK	Leu(Arg(Gly(K)101	6
285	5.89	5.89	21.36	7.097	4.735	sp P04146 COP1A_DROME	Copia protein OS=Drosophila melanogaster GN=COP1A PE=1 SV=3	0	92.27	LPFKQLK	Oxidation(K)104; Gly(Gly(K)107	8
9	62.41	68.67	80.22	66.04	66.04	sp P8293 HSP70_DROME; sp P02825 HSP71_DROME	Major heat shock 70 kDa protein Aa OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp70Aa PE=2 SV=2; Major heat shock 70 kDa protein Ab OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp70Ab PE=2 SV=3	0	97.6	QDVLLVDVAPLSIGETAGSWTK	Oxidation(P)10; Gly(Gly(S)12	16
373	2.33	66.67	79.41	65.21	65.21	sp Q9VGS8 HSP74_DROME; sp Q9BS22 HSP73_DROME; sp Q9B1F7 HSP75_DROME; sp Q8N1B HSP72_DROME	Major heat shock 70 kDa protein Bbb OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp70Bb PE=3 SV=2; Major heat shock 70 kDa protein Bb OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp70Bb PE=2 SV=2; Major heat shock 70 kDa protein Bc OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp70Bc PE=2 SV=2; Major heat shock 70 kDa protein Ba OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp70Ba PE=2 SV=2	0	97.6	QDVLLVDVAPLSIGETAGSWTK	Oxidation(P)10; Gly(Gly(S)12	16
39	33.11	50.38	77.01	55.91	52.13	sp Q9V125 HSP68_DROME	Heat shock protein 68 OS=Drosophila melanogaster GN=Hsp68 PE=1 SV=1	0	83.25	TAEAVLTGTYKDAITVPAFNDSOR	Phospho(T)99; Gln(Thr(Gly(K)101; Dehydrated(D)12	16

Table 8 免疫沈降-ショットガン質量分析により同定されたユビキチン化および SUMO 化されたペプチド(続き)

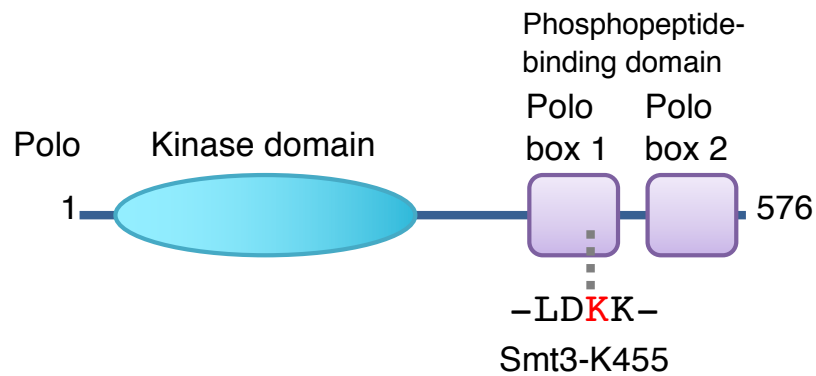


Fig. 9 Polo タンパクの構造模式図

質量分析により, polo の K455 残基が SUMO 化されているペプチド断片が同定された. この SUMO 化を受ける 455 番目のリジンは, リン酸化ペプチド結合ドメインである polo box ドメイン (PBD; polo box domain) 1 内に存在する

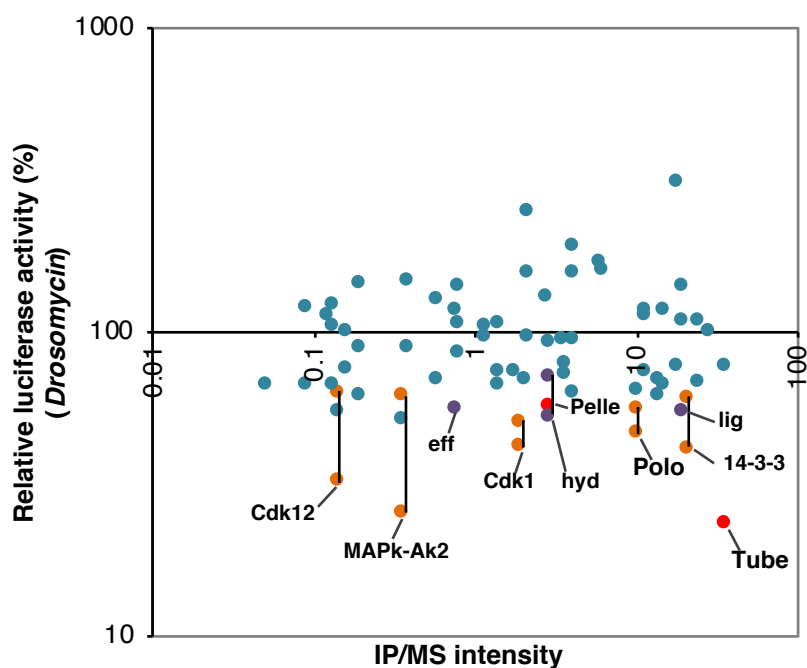


Fig. 10 ゲノムワイド RNAi スクリーニングの結果と免疫沈降-ショットガン質量分析の結果を併せて解析した

プロテインキナーゼ, E3 リガーゼ, フォスファターゼに属する因子について, dMyd88 と Tube を共過剰発現した DL1 細胞を用いたゲノムワイド RNAi スクリーニングのデータと, 免疫沈降-ショットガン質量分析のデータを併せて解析した結果を示す. X 軸は免疫沈降物中に見出されるタンパクの質量分析シグナルの強度を示し, Y 軸はゲノムワイド RNAi スクリーニングで得られた RLA 値を示す. 結果と考察で触れたタンパクはオレンジ色または赤色で示し, タンパク名を表示した. 同一遺伝子に複数の dsRNA アンプリコンを使用した場合には複数のドットで表示し, 各ドットを直線で繋いで示している.

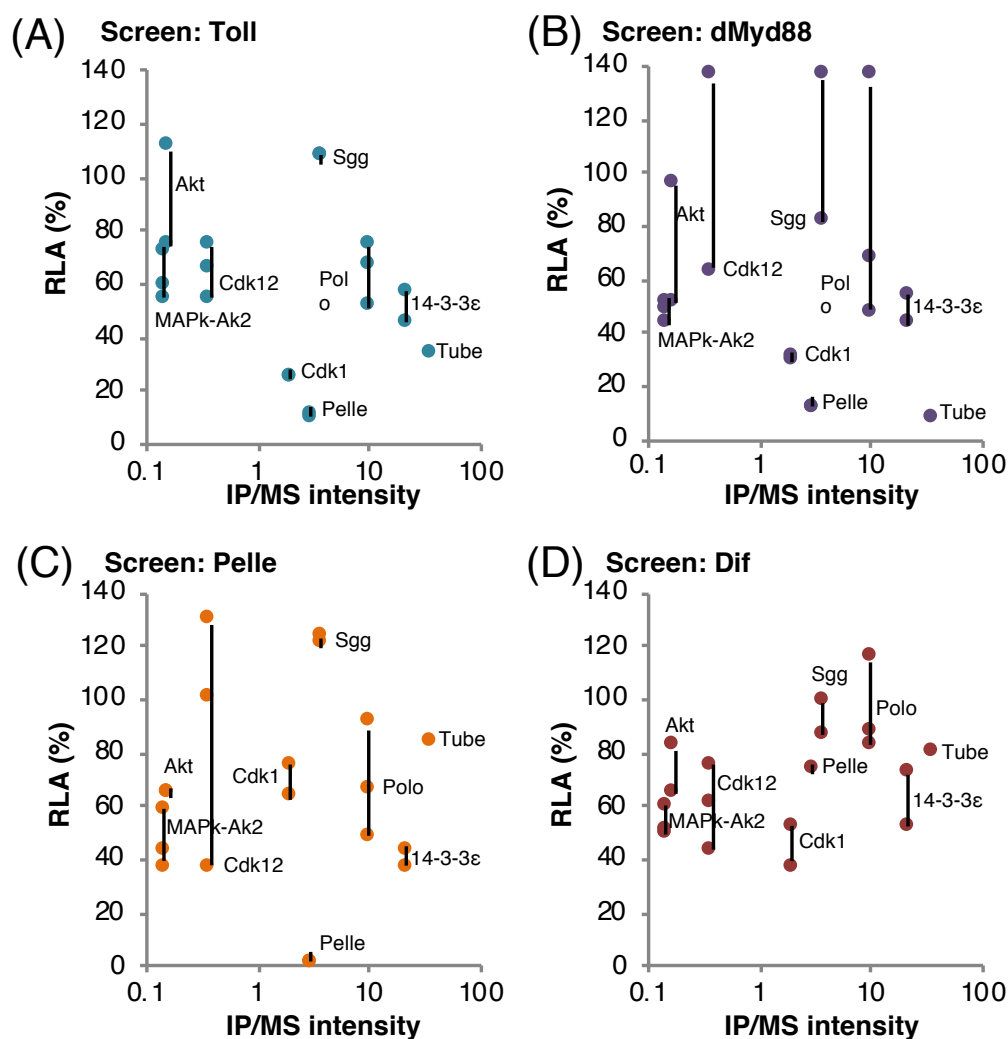


Fig. 11 種々の条件で実施されたゲノムワイド RNAi スクリーニングの結果と免疫沈降-ショットガン質量分析の結果を併せて解析した

FIG. 10 で示した dMyd88 と Tube の共発現によるゲノムワイド RNAi スクリーニングと免疫沈降-質量分析に共通して同定されたプロテインキナーゼ関連因子について, 既出のゲノムワイド RNAi スクリーニングの結果とも比較した. X 軸は免疫沈降物中に見出されるタンパクの質量分析におけるシグナル強度を示し, Y 軸はゲノムワイド RNAi スクリーニングで得られた RLA 値を示す. 同一遺伝子に複数の dsRNA アンプリコンを使用した場合には複数表示している.

A: Toll 受容体活性化によるスクリーニング(ショウジョウバエ幼虫抽出液(Spz5)を用いた), B: dMyd88 過剰発現によるスクリーニング, C: Pelle 過剰発現によるスクリーニング, D: Dif 過剰発現によるスクリーニング

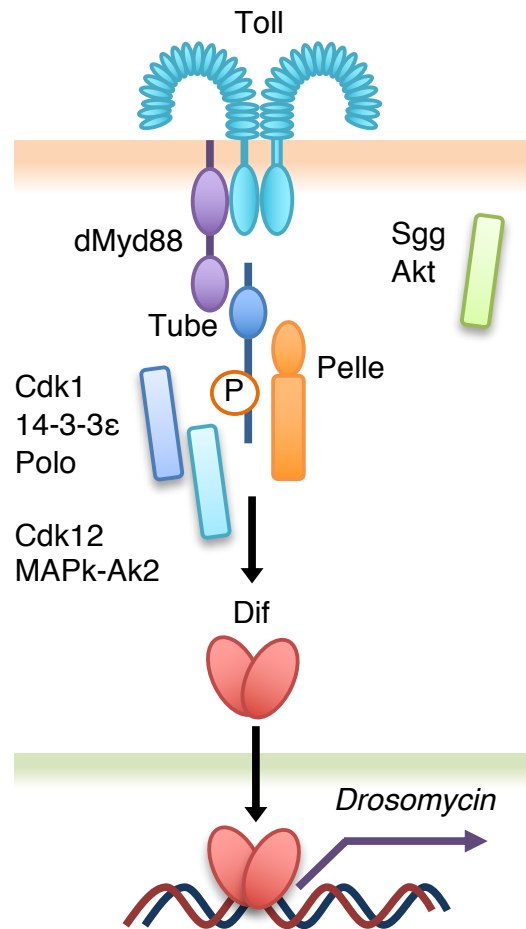


Fig. 12 本研究により同定されたプロテインキナーゼ関連因子を含めた Toll 経路のシグナル伝達の推定模式図

Cdk1, 14-3-3ε, polo は Myddosome 近傍で Toll 経路に関与しており, Cdk12, MAPk-Ak2 は Myddosome より下流で Toll 経路に関与し, Sgg, Akt は Myddosome 近傍で, 異なる経路に関与しているものと推定された.

結論と展望

本研究においては、ショウジョウバエにおいて生体を防御するための自然免疫において重要な役割を果たす Toll シグナル伝達経路のさらなる理解を進めるために、ショウジョウバエの後期胚由来の血球系細胞である DL1 細胞を用いて検討を行った。

はじめに、DL1 細胞において哺乳類 IRAK ホモログである Tube の過剰発現により Toll 経路を活性化し、下流のシグナル伝達メカニズムを解析することを考えた。Tube 単独の過剰発現では Toll 経路の活性化が十分に起こらなかったことから、dMyd88 と Tube を共に過剰発現させることにより Toll 経路を活性化し、網羅的なゲノムワイド RNAi スクリーニングを実施した。その結果、計 454 の候補遺伝子が同定された。これらを機能分類したところ、プロテインキナーゼあるいはキナーゼ様ドメインを含むタンパクの遺伝子が 21、Toll 経路に関わる既知の遺伝子が 7 つ、ユビキチンリガーゼ関連の遺伝子が 6 つ同定された。この結果より、Toll 経路におけるこれらの機能因子の重要性が改めて確認されたと考えられる。とくに、本スクリーニングにおいては Pelle の RNAi による Toll 経路活性化の減弱効果が弱いという特徴があり、このことは Pelle 以外のプロテインキナーゼが Toll 経路のシグナル伝達に主に関与している可能性を示唆している。

次に、dMyd88 と Tube の双方に V5 タグを付加したタンパクを DL1 細胞で共過剰発現させ、その細胞溶解液から抗 V5 抗体にて Myddosome とともに共免疫沈降されるタンパクのプロテオーム解析を行った結果、計 708 のタンパクが同定された。これらのタン

パクの中で 19 のプロテインキナーゼ関連タンパク, 15 のユビキチン化関連タンパクリガーゼ, 10 のフォスファターゼが同定されたことはこれらの機能タンパクが Toll 経路のシグナル伝達において重要な役割を果たしているものと考えられた. さらに本解析により, Myddosome と共免疫沈降するタンパク中に 68 のリン酸化ペプチドが確認され, その中に, Tube の 226 番目のセリンと 229 番目のトレオニンがリン酸化されたペプチド断片が同定された. この 2 つのリン酸化をもたらすキナーゼをモチーフ解析により試みた結果, RNAi スクリーニングならびに共免疫沈降-質量分析の両方で同定された polo キナーゼがこれらのリン酸化を行っている可能性が示唆された. すなわち polo キナーゼが Tube のリン酸化をもたらしており, このリン酸化が Toll 経路のシグナル伝達において重要な役割を担っているものと考えられた. また, ユビキチン化あるいは SUMO 化を受けたペプチドの解析により 104 のユビキチン化/SUMO 化ペプチドが同定されたが, その中に polo キナーゼの 455 番目のリジンが SUMO 化されたペプチドが同定された. この 455 番目のリジンはリン酸化ペプチド結合ドメインである PBD1 内に存在することより, 本 SUMO 化が N 末端側にあるセリン/トレオニン プロテインキナーゼ活性に深く関わっていることが推測された. これらの結果から, Toll 経路の活性化により polo キナーゼが SUMO 化を受け活性化, この polo キナーゼが Tube をリン酸化することにより下流にシグナルを伝達している可能性が考えられた.

次に dMyd88 と Tube を共過剰発現させることにより Toll 経路を活性化した DL1 細胞を用いて実施したゲノムワイド RNAi スクリーニングのデータと, dMyd88 と Tube の共過剰発現で活性化した状態で Myddosome との共免疫沈降-質量分析により得られたデータを併せて解析し, 特にキナーゼ関連遺伝子に注目して Toll 経路への関与, そ

の役割について検討を行った。その結果, polo, 14-3-3 ϵ , Cdk1, Cdk12, MAPk-Ak2, Sgg, Akt 等が Myddosome と物理的に相関し, Toll 経路のシグナル伝達に関与している可能性が高いことを示すことができた。

共同研究者らにより, Sherpa が dMyd88 をユビキチン化することにより Tube を細胞膜上にリクルート, これにより polo キナーゼによりリン酸化を受ける可能性が示唆されている。一方, Sherpa は dMyd88 をユビキチン化するとともに未知のターゲットの SUMO 化に関与することが分かっていたが, 今回 polo キナーゼが SUMO 化されていることが確認されたことから, これが Sherpa により成されている可能性があるとも考えられる。すなわち, Sherpa は dMyd88 をユビキチン化することにより Tube をリクルートし, Myddosome 複合体の形成を促進するとともに polo キナーゼを直接的あるいは間接的に SUMO 化することにより, polo キナーゼを活性化, 活性化された polo キナーゼが Tube をリン酸化することにより Toll シグナルを強力に活性化し, 下流にそのシグナルを伝達するという仮説を提唱したい。加えて, hyd, eff, lig 等のタンパクリガーゼ関連因子が Toll 経路に関与していることが示唆されたことより, Sherpa 以外にもユビキチン化, SUMO 化が関与すること, それが Toll 経路のシグナル伝達に重要な役割を果たしていることも示唆されていると考えられる。

以上, 包括的ゲノムワイド RNAi スクリーニング解析の結果と, Myddosome 複合体の共免役沈降-質量分析の結果を併せてバイオインフォマティクス解析を行い, Toll 経路, 特に dMyd88 と Tube の下流に関与する可能性のある遺伝子を同定した。加えて, Toll 経路に関与すると考えられるキナーゼ関連遺伝子, さらには翻訳後修飾を同定し Toll 経路に関わる因子とその制御機構に関して新たな仮説を提唱するに至った。

本研究で提示した仮説について、今後生化学的解析、遺伝学的な解析を含めた in vivo 解析等により、さらなる検討が実施されることが望まれる。

材料と方法

<細胞培養>

ショウジョウバエ DL1 細胞は, *Drosophila* RNAi Screening Center (Harvard medical school, US)より供与され, 細胞培養は(10)に記載のとおりに行った. すなわち 10% (v/v) 加熱非働化胎児ウシ血清と 1x Antibiotic-Antimycotic (Life technologies)を含んだ Schneider's *Drosophila* medium (Invitrogen)中, 25°Cで維持した.

<発現ベクターおよびレポーター遺伝子の構築>

全長 dMyd88, Pelle, Dif の過剰発現ベクターの構築には, cDNA 断片を pMT-v5his expression vector (Invitrogen)に Kpn I 部位と Xho I 部位でクローニングした. pGL3-*Drosomycin*-Firefly luciferase reporter vector の構築には, *Drosomycin* プロモーター領域(NCBI Reference Sequence: NT_037436.4; 3367189-3369621)を pGL3 vector (Promega)にクローニングした. pAc5.1-Renilla luciferase transfection control vector の構築には, pGL4.70 (Promega)上の hRluc 遺伝子および SV40 polyadenylation signal sequence のカセットを pAc5.1(Invitrogen)に Xho I 部位と BamH I 部位でクローニングした. DG2 過剰発現ベクターの構築には, 全長 DG2P2 の cDNA 断片を Not I 部位と EcoR V 部位で pMT-v5his expression vector にクローニングした. pCDNA3-FLAG-MyD88, pELAM(Firefly luciferase reporter vector), pRL-TK(Renilla luciferase transfection control vector)は東北大学生命科学研究科 牟田達史教授より頂いた. pCMV4-PRKG2 は Origene 社より購入した. pUNO1-

hIRAK-HA は Invivogen 社より購入した。遺伝子変異は QuikChange Site-Directed Mutagenesis Kit (Agilent)のプロトコールに従って導入した。

<384-well plate を用いたゲノムワイド RNAi スクリーニング>

Drosophila RNAi Screening Center (Harvard Medical School, Cambridge, MA, US)から供与された DRSC Genome-wide RNAi Library (DRSC 2.0)を用いて、約 13,900 遺伝子を網羅する条件でスクリーニングを行った。384-well プレート上で、80 ng dsRNA, 10 ng pGL3-Drosomycin-Firefly luciferase reporter vector, 10 ng pAc5.1-Renilla luciferase transfection control vector を、9.3 μ L buffer EC で希釈し、0.4 μ L Enhancer, 0.5 μ L Effectene と 20 分間反応させた。スクリーニング毎に、10 ng pMT-dMyd88, 20 ng pMT-DG2P2, 20 ng pMT-Gyc76C, 0.4 ng pMT-Pelle, 1.0 ng pMT-Dif, 10 ng dsRNA of Cactus を追加して反応させた。DL1 細胞 (1×10^6 cells/mL, 35 μ L)を加えてトランスフェクションを行った。24 時間後、終濃度 1 mM CuSO₄ で過剰発現を誘導した。48 時間後、細胞内のルシフェラーゼ活性を、Dual-glo Luciferase Assay System (Promega)を用いて、SpectraMax L-TY A luminometer (Molecular Devices)で検出した。算出した相対ルシフェラーゼ活性を、各プレートについて median + k median-absolute deviation 法 (20)を用いて解析した。

<ゲノムワイド RNAi スクリーニング>

細胞培養, RNAi の調製およびレポーターアッセイのための具体的な方法は、以前に記載された方法により実施した (10, 11)。約 13,900 の遺伝子をカバーする dsRNA が 384 ウェルフォーマットで構成された 66 枚のマイクロプレートからなる DRSC のゲノム

ワイド RNAi ライブラリー (DRSC 2.0) を使用した。DL1 細胞に Effectene トランスフェクション試薬 (Qiagen 社) を用いてベクターと dsRNA をトランスフェクトした。各ウェルあたり 9.3 μL の EC バッファーに 10 ng の pGL3-*Drosomycin*-Firefly luciferase レポーターベクター, 10 ng の pAc5.1-Renilla luciferase トランスフェクションコントロールベクター, 10 ng の pMT-dMyd88, 10 ng の pMT-Tube, 0.4 μL のエンハンサー, 0.5 μL の Effectene を加えたものを添加する。この約 10 μL の溶液をスクリーニングプレートの各ウェル毎に dsRNA 80 ng と直ちに混合した。10 分間インキュベートした後、各ウェルに 35 μL の DL1 細胞 (1.0×10^6 cells/mL) を加えて脂質 DNA 複合体によるトランスフェクションを行った。28°C で 24 時間培養を行った後、 CuSO_4 を最終濃度が 0.5 mM となるように加えて、48 時間、発現誘導を行った。Firefly と Renilla の luciferase 活性を Dual-Glo luciferase アッセイ (Promega 社) により測定した。データ解析、機能注釈による候補遺伝子の同定法については先に報告の手法に従った (10)。

<RNAi とレポーターアッセイ>

Drosomycin-Firefly luciferase reporter を導入した DL1 細胞 (Drs-luc-DL1 細胞) を 96-well プレートにて 12 時間培養した (6.0×10^5 cells/well)。その後各種 Toll 関連分子の dsRNA 200 ng ずつを Effectene トランスフェクション試薬 (Qiagen) と共に添加し、25°C で 36 時間さらに培養した。その後ショウジョウバエ幼虫の抽出液を加え 25°C でさらに 12 時間培養後、ルシフェラーゼ活性を ONE-GLO Luciferase Assay System (Promega) で測定した (12)。

dsRNA 作製用にクローニングする遺伝子のターゲット amplicon と PCR プライマー

aur

Amplicon ID: DRSC27171

Amplicon Length: 461

160705-1 (aur-Fw)

AACC TTAATTAA TAATACGACTCACTATAGGGAGACCAC TAGTTGTCGAGTGCCTGTGC

160705-2 (aur-Bw)

AACC GAATTC TAATACGACTCACTATAGGGAGACCAC CCAGTTCCTTGAGGATTCA

CDK1

Amplicon ID: DRSC03504

Amplicon Length: 577

160705-3 (CDK1-Fw)

AACC TTAATTAA TAATACGACTCACTATAGGGAGACCAC AGTCGGGTAGCGAAGTAAC

160705-4 (CDK1-Bw)

AACC GAATTC TAATACGACTCACTATAGGGAGACCAC GTCTGTTTGAGGATGTTTTG

CDK12

Amplicon ID: DRSC29623

Amplicon Length: 352

160705-5 (CDK12-Fw)

AACC TTAATTAA TAATACGACTCACTATAGGGAGACCAC ATCAATGCCTTACTGGACCG

160705-6 (CDK12-Bw)

AACC GAATTC TAATACGACTCACTATAGGGAGACCAC TGGAGCTGTAGTGAGAGGGC

mnb

Amplicon ID: DRSC28430

Amplicon Length: 408

160705-7 (mnb-Fw2)

AACC TTAATTAA TAATACGACTCACTATAGGGAGACCAC GCTTGAGCTTAACTGCGGAT

160611-4 (mnb-Bw)

AGCT GAATTC TAATACGACTCACTATAGGGAGACCAC ATAACGACGGCTACGACGAC

Doa

Amplicon ID: DRSC16650

Amplicon Length: 135

160611-1 (Doa-Bw2)

AGCT GAATTC TAATACGACTCACTATA GGGAGACCAC TCGACGAAGAGTATGTTCTC

160705-8 (Doa-Fw2)

AACC TTAATTAA TAATACGACTCACTATAGGGAGACCAC AGAGAACAACCTATGAGCCATAC

Polo

Amplicon ID: DRSC22359

Amplicon Length: 514

160824-1 (polo-Fw)

AACC TTAATTAA TAATACGACTCACTATAGGGAGACCAC CGGAGATCCTCACCAAGAA

160824-2 (polo-Bw)

AACC GAATTC TAATACGACTCACTATAGGGAGACCAC GTGAGCTGCTGGTACAGG

MAP-Ak2

Amplicon ID: DRSC29642

Amplicon Length: 355

160824-3 (MAP-Ak2-Fw)

AACC TTAATTAA TAATACGACTCACTATAGGGAGACCAC TGGCTAGCTAGGCTTGCACT

160824-4 (MAP-Ak2-Bw)

AACC GAATTC TAATACGACTCACTATAGGGAGACCAC AGGAGAGATGGGCGTAGGAT

Pitslre

Amplicon ID: DRSC23346

Amplicon Length: 518

160824-5 (Pitslre-Fw)

AACC TTAATTAA TAATACGACTCACTATAGGGAGACCAC AGTACCCACAAGCAAAACCG

160824-6 (Pitslre-Bw)

AACC GAATTC TAATACGACTCACTATAGGGAGACCAC GCATAGCTGTCTTCGCTTCC

hyd

Amplicon ID: DRSC28294

Amplicon Length: 315

160824-7 (hyd-Fw2)

AACC TTAATTAA TAATACGACTCACTATAGGGAGACCAC GCGACCGAATAAGTCCAGAG

160611-6 (hyd-Bw)

AGCT GAATTC TAATACGACTCACTATAGGGAGACCAC GCCACACGACCAGAGGTTAT

effete

Amplicon ID: DRSC16940

Amplicon Length: 155

160824-8 (effete-Fw)

AACC TTAATTAA TAATACGACTCACTATAGGGAGACCAC TTAATGCTGGCGACCACT

160824-9 (effete-Bw)

AACC GAATTC TAATACGACTCACTATAGGGAGACCAC AGGAGGTGTATTCTTCTTAACTA

Ubc10

Amplicon ID: DRSC07568

Amplicon Length: 446

Target Gene(s): Ubc10

160824-10 (Ubc10-Fw2)

AACC TTAATTAA TAATACGACTCACTATAGGGAGACCAC GTCGGCCGGACGTTTTT

160611-8 (Ubc10-Bw)

AGCT GAATTC TAATACGACTCACTATA GGGAGACCAC GCCTGCGAAAAGAATTGAG

<免疫沈降 - 質量分析>

抗体結合磁気ビーズの調製: Dynabeads ヒツジ抗-ウサギ IgG M280 (約 1.8 mL の溶液) を 500 μ L の PBS (pH7.4) で 3 回洗浄した。磁気ビーズを 200 μ L の PBS で 3 回洗浄した後, 60 μ L の抗 V5 ウサギポリクローナル抗体 (MBL) を加えて室温で 1 時間静置した。磁気ビーズに結合しなかった抗体を 500 μ L の PBS にて洗浄し, 除去した。1.25 mM のジチオトレイトール (15 % DMSO/PBS 溶液 (pH 7.4)) を加え, 室温で 30 分間反応させ, 磁気ビーズに抗体をクロスリンクさせた。磁気ビーズを 2 回 500 μ L の PBS で洗浄し, クロスリンク反応を停止させた。こうして調製した磁気ビーズを 500 μ L の TBS に懸濁し, 4°C にて保存した。

タンパク発現, 免疫沈降, マススペクトロメトリー: DL1 細胞を 50 mL の SDM 培地で, T-25 フラスコにて 1~2 日間, 80 %程度の細胞密集度になるまで前培養した.

Effectene トランスフェクション試薬 (14 mL の EC バッファー中に 1 mL の Effectene と 0.8 mL のエンハンサーを加える)を用いて, 細胞に発現ベクター (60 μ g の pMT-
Tube-V5 と 60 μ g の pMT-dMyd88-V5)をトランスフェクションし, 一晚培養した. その後, 最終濃度 0.5 mM となるように CuSO_4 を加えて 48 時間培養することにより, タンパクの発現を誘導した. 細胞をハーベストし, PBS にて 1 度洗浄したのちにペレットとした (500 x g, 室温, 10 分間). 4 つのフラスコから採取した細胞を合わせて, 10 mL の溶解バッファー (TBS (pH 7.5), 1 % NP-40, Complete protease inhibitor cocktail (Roche))を加えて, 4°Cで 30 分間回転させた. こうして得た細胞溶解液を 3000 x g, 10 分間遠心し, 上清を回収した. ここに溶解バッファーで平衡化した 200 μ L の Dynabeads ヒツジ抗-ウサギ IgG M280 を加えて 4°Cで 30 分間静置させることにより非特異的に結合してくるタンパクを除去した. こうして処理した細胞溶解液を抗 V5 ウサギポリクローナル抗体をクロスリンクさせた Dynabeads ヒツジ抗-ウサギ IgG M280 と 4°Cで一晩反応させた. Dynabeads を磁気により回収し, 氷上で 8 mL の (TBS (pH 7.5), 0.1 % NP-40)で 5 回洗浄した. こうして免疫沈降したタンパクを 150 μ L の溶出バッファー (50 mM Tris-HCl (pH 8.8), 0.5 % SDS)で室温で 10 分間ずつ 2 回溶出させた. こうして得た 300 μ L の溶出液をショットガン質量分析に供した. 質量分析は株式会社医学生物学研究所に委託して実施し, 結果は ProteinPilot ソフトウェア (SCIEX) にて解析した.

参考文献

1. S. Akira, S. Uematsu, O. Takeuchi, Pathogen recognition and innate immunity, *Cell*. 124 (2006) 783–801.
2. Q. Zhang, M.J. Lenardo, D. Baltimore, 30 years of NF- κ B: A blossoming of relevance to human pathobiology, *Cell*. 168 (2017) 37–57.
3. M.P. Mattson, M.K. Meffert, Roles for NF- κ B in nerve cell survival, plasticity, and disease, *Cell Death Differ*. 13 (2006) 852–60.
4. C. Hetru, J.A. Hoffmann, NF- κ B in the immune response of *Drosophila*, *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 1 (2009) a000232.
5. T.D. Gilmore, F.S. Wolenski, NF- κ B: where did it come from and why?, *Immunol Rev*. 246 (2012) 14–35.
6. F. Leulier, B. Lemaitre, Toll-like receptors—taking an evolutionary approach, *Nat Rev Genet*. 9 (2008) 165–78.

7. Y. Momiuchi, K. Kumada, T. Kuraishi, T. Takagaki, T. Aigaki, Y. Oshima, S. Kurata,
The role of the phylogenetically conserved co-chaperone protein
Droj2/DNAJA3 in NF- κ B signaling, J Biol Chem. 290 (2015) 23816–25.
8. B. Lemaitre, J. Hoffmann, The host defense of *Drosophila melanogaster*, Annu
Rev Immunol. 25 (2007) 697–743
9. S. Valanne, J.H. Wang, M. R  met, The *Drosophila* Toll signaling pathway, J
Immunol. 186 (2011) 649–56.
10. H. Kanoh, L.L. Tong, T. Kuraishi, Y. Suda, Y. Momiuchi, F. Shishido, S. Kurata,
Genome-wide RNAi screening implicates the E3 ubiquitin ligase Sherpa in
mediating innate immune signaling by Toll in *Drosophila* adults, Sci Signal. 8
(2015) ra107.
11. H. Kanoh, T. Kuraishi, L.L. Tong, R. Watanabe, S. Nagata, S. Kurata, *Ex vivo*
genome-wide RNAi screening of the *Drosophila* Toll signaling pathway elicited by
a larva-derived tissue extract, Biochem Biophys Res Commun. 467 (2015) 400–
6.

12. S. Nonaka, K. Kawamura, A. Hori, E. Salim, K. Fukushima, Y. Nakanishi, T. Kuraishi, Characterization of Spz5 as a novel ligand for *Drosophila* Toll-1 receptor, *Biochem Biophys Res Commun.* 506 (2018) 510–515.
13. S. Roth, Y. Hiromi, D. Godt, C. Nüsslein-Volhard, Cactus, a maternal gene required for proper formation of the dorsoventral morphogen gradient in *Drosophila* embryos, *Development* 112 (1991) 371–88.
14. W. Huang da, B.T. Sherman, R.A. Lempicki, Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources, *Nature Protocols* 4 (2009) 44.
15. W. Huang da, B.T. Sherman, R.A. Lempicki, Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists, *Nucleic Acids Res.* 37 (2009) 1–13.
16. Y. K. Fujii, T. Nakano, F. Usui, Y. Bando, F. Inagaki, T. Nishimura, Utility of Application of Liquid Chromatography/Triple Stage Mass Spectrometry (LC/MS³) for Proteome Analysis, *J. Mass Spectrum. Soc. Jpn*, 57, (2009) 317–325.

17. L.R. Marek, J.C. Kagan, Phosphoinositide binding by the Toll adaptor dMyD88 controls antibacterial responses in *Drosophila*, *Immunity*. 36 (2012) 612–22.
18. P. Towb, A. Bergmann, S. A. Wasserman, The protein kinase Pelle mediates feedback regulation in the *Drosophila* Toll signaling pathway, *Development*. 128 (2001) 4729–36.
19. Y. Xue, F. Zhou, M. Zhu, K. Ahmed, G. Chen, X. Yao, GPS: a comprehensive www server for phosphorylation sites prediction, *Nucleic Acids Res.* 33 (2005) W184–7.
20. M. Hedengren, B. Asling, M. S. Dushay, I. Ando, S. Ekengren, M. Wihlborg, D. Hultmark, Relish, a central factor in the control of humoral but not cellular immunity in *Drosophila*. *Mol. Cell*. 4 (1999) 827–37.

謝辞

本研究に際し、主任指導教員として、終始ご懇篤なるご指導、ご鞭撻を賜りました金沢大学 医薬保健研究域 薬学系 准教授 倉石 貴透 博士に謹んで御礼申し上げます。

本研究に際し、共同研究者として終始ご指導、ご支援、有益なご助言をいただきました東北医科薬科大学 分子生体膜研究所 狩野 裕孝 博士に謹んで御礼申し上げます。

本研究に際し、ご指導、ご支援をいただきました慶応大学 医学部 教授 本田賢也 博士に深く感謝申し上げます。

社会人大学院生として受け入れて下さり、ご懇篤なるご指導、ご鞭撻を賜りました金沢大学 医薬保健研究域 薬学系 教授 中西 義信 博士に謹んで御礼申し上げます。

副査として本論文の審査にあたり、有益なご助言、ご指導を賜りました金沢大学 医薬保健研究域 薬学系 教授 松永 司 博士、同 教授 鈴木 亮 博士、同 准教授 伊従 光洋 博士に謹んで御礼申し上げます。

本研究を進めるために、数々のご支援、有益なご助言を賜りました金沢大学 医薬保健 研究域薬学系 堀 亜紀 博士に深く感謝申し上げます。

本研究を進めるために、数々のご支援、有益なご助言を賜りました安田女子大学 薬学部 薬学科 助教 野中 さおり 博士に深く感謝申し上げます。

社会人大学院生として本研究を行うことにご理解いただき、ご支援いただきましたエーザイ株式会社 代表執行役 CEO 内藤 晴夫 博士をはじめ エーザイ株式会社 関係者の皆様に謹んで御礼申し上げます。

卒業研究，修士課程の研究をご指導いただいて以来，長きにわたりご指導いただき，本研究についても暖かくご支援，ご助言を賜りました金沢大学 名誉教授 正宗 行人博士に謹んで御礼申し上げます．

社会人大学院生として本研究を行うことを理解し，サポートしてくれた家族，加藤 裕子，加藤 啓倫，加藤 彰宏，加藤 麻友美に心から感謝申し上げます．

最後に，長きにわたり支えてくれ，本論文を書き終えたことを最も喜んでくれているであろう，父 加藤 増郎ならびに母 加藤 つぎよに心からの感謝を込めて本書を捧げます．